

VISIT...

LANZAROTE
Caliente.COM

Gas Chromatography
with
Glass Capillary Columns

WALTER JENNINGS
Department of Food Science and Technology
University of California
Davis, California

ACADEMIC PRESS
New York San Francisco London 1978

В. ДЖЕННИНГС

Газовая
хроматография
на стеклянных
капиллярных
колонках

Перевод с английского
канд. физ.-мат. наук
С. А. ОРЛОВСКОГО

под редакцией
доктора хим. наук, проф.
В. Г. БЕРЕЗКИНА

ИЗДАТЕЛЬСТВО «МИР»
МОСКВА, 1980

Книга американского автора В. Дженнингса посвящена капиллярной хроматографии — единственному в настоящее время методу, позволяющему эффективно разделять сложные многокомпонентные смеси на составляющие (например, при определении состава нефти, изучении аромата пищевых продуктов, загрязнений воздуха и т. п.).

Предназначена для исследователей — химиков, биохимиков, медиков, инженерно-технических работников химической, нефтехимической, медицинской, фармацевтической промышленности.

Редакция литературы по химии

1805000000

Д 20503-513
041(01)-80 70-81, ч. 1

Copyright © 1978, by Academic Press Inc.

© Перевод на русский язык, «Мир», 1980

В. Дженнингс

ГАЗОВАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ НА СТЕКЛЯННЫХ
КАПИЛЛЯРНЫХ КОЛОНКАХ

Ст. научный редактор Г. М. Мануйлова. Мл. научный редактор Ю. В. Сергиевская. Художник И. И. Каледин. Художественный редактор М. Г. Кузьмина. Технический редактор Е. В. Яшук. Корректор Т. П. Пашковская

ИБ № 2233

Сдано в набор 29.04.80. Подписано к печати 26.09.80. Формат 84×108¹/₃₂. Бумага типографская № 2. Гарнитура латинская. Печать высокая. Объем 3,63 бум. л. Усл. печ. л. 12,18. Уч.-изд. л. 10,82. Изд. № 3/0828. Тираж 3000 экз. Зак. 673. Цена 1 р. 70 к.

ИЗДАТЕЛЬСТВО «МИР», Москва, 1-й Рижский пер., 2.

Ленинградская типография № 2 головное предприятие ордена Трудового Красного Знамени Ленинградского объединения «Техническая книга» им. Евгения Соколовой Союзполиграфпрома при Государственном комитете СССР по делам издательств, полиграфии и книжной торговли. 198052, г. Ленинград, Л1-52, Измайловский проспект, 29.

Современная органическая аналитическая химия — это аналитическая химия прежде всего сложных смесей, многие компоненты которых могут присутствовать в следовых концентрациях. Наиболее простым и эффективным методом анализа сложных смесей летучих соединений является газовая хроматография. Предложенная Голеем в 50-х годах капиллярная хроматография, в которой в качестве колонки используют капилляр длиной в несколько десятков метров, вооружила химиков и физиков, врачей и технологов новым химическим «зрением». Разрешающая способность подобных колонок в 10—1000 раз выше, чем у обычных аналитических колонок с насадкой.

Капиллярная хроматография характеризуется рядом существенных особенностей в методике и аппаратуре практически на всех стадиях хроматографического анализа — от введения пробы до детектирования разделенных компонентов. Капиллярную хроматографию можно рассматривать как микрометод газовой хроматографии. Миниатюризация колонки (аппаратуры) позволила существенно уменьшить величину анализируемой пробы и одновременно повысить эффективность разделения. Развитие капиллярной хроматографии отражает общую тенденцию развития аналитической химии, а именно переход к микрометодам. В последние годы применение капиллярной хроматографии резко расширилось. Это объясняется, по-видимому, не только высокой эффективностью метода и его большой чувствительностью, но и расширением области применения метода, особенно в сторону анализа высококипящих и нестойких соединений. Последнее преимущество метода связано с резким уменьшением количества сорбента и, следовательно, понижением температуры анализа, а также с более широким применением адсорбционно и каталитически инертных материалов для изготовления колонки и твердого носителя.

Вначале сложные и плохо воспроизводимые методы капиллярной хроматографии в настоящее время стали гораздо проще и надежнее. Капиллярные газо-

вые хроматографы выпускает отечественная промышленность. Применение капиллярной хроматографии в любой лаборатории в настоящее время не вызывает каких-либо принципиальных затруднений.

Однако для быстрого освоения этого метода и его практического использования важное значение имеет выбор «гида», который за короткое время ввел бы химика и биолога, врача и технолога, металлурга и пищевода в новую важную область аналитического эксперимента, помог бы ему выбрать оптимальный путь, следуя которым можно было бы ознакомиться как с главными методами работы, так и с основными затруднениями; последнее не менее важно, поскольку незнание этих затруднений, как правило, приводит к получению ложных результатов. Роль такого первого «гида» успешно, по нашему мнению, может выполнить небольшая по объему, но содержащая все необходимые сведения книга В. Дженнингса «Газовая хроматография на стеклянных капиллярных колонках». Профессор Дженнингс — известный ученый в области хроматографии, его работы немало способствовали существенному развитию этого метода. Для данной книги характерны, во-первых, четкий, лаконичный стиль изложения и, во-вторых, рациональный отбор излагаемого материала и его практическая направленность. Главное внимание уделяется общим многократно проверенным на практике методам работы в капиллярной хроматографии. Несомненное достоинство книги — большое внимание, уделяемое деталям, без знания которых практическая работа невозможна. Такое детальное описание «мелочей» особенно важно для капиллярной хроматографии, которая и в настоящее время, по мнению многих исследователей, остается искусством в большей мере, чем другие области хроматографии. Книга иллюстрирована хорошо продуманными рисунками, что облегчает понимание излагаемого материала. Поэтому ее можно рекомендовать широкому кругу исследователей, начинающих применять этот высокоэффективный метод в своей работе и не являющихся специалистами в области хроматографии.

Поскольку в капиллярной хроматографии в настоящее время известны и находят широкое практическое применение различные капиллярные колонки, целесообразно рассмотреть их основные типы.

Во-первых, капиллярные колонки классифицируют по заполнению колонки насадкой. В открытых капиллярных колонках (ОКК) насадка (сорбент) расположена на внутренней стенке колонки или в пристеночной области; в центральной части колонки насадки нет, имеется открытый канал. В насадочных капиллярных колонках (НКК) насадка заполняет весь объем (сечение) колонки.

Во-вторых, открытые капиллярные колонки классифицируют по наличию пористого слоя сорбента. В открытых с пористыми (шероховатыми) стенками (ОПС) капиллярных колонках внутренняя поверхность капилляра увеличена, например, путем травления материала колонки или нанесения на стенки слоя сорбента или твердого носителя. В открытых с непористыми стенками колонках (ОНС) внутренняя поверхность не развита.

В-третьих, открытые с пористыми стенками колонки классифицируют по связи пористого слоя адсорбента или твердого носителя со стенками колонки. В открытых с закрепленным пористым слоем насадки колонках (ОЗПС) сорбент или твердый носитель прочно связан со стенками капилляра. В открытых с незакрепленным пористым слоем капиллярных колонках (ОНПС) используют слой адсорбента или твердого носителя, который не закреплен на поверхности и может перемещаться внутри колонки.

Принимая во внимание важное значение насадочных капиллярных колонок, в книге, с согласия ее автора, проф. В. Дженнингса, сделано небольшое дополнение, в котором кратко рассмотрено современное состояние этой области капиллярной хроматографии.

В заключение редактор считает своим приятным долгом выразить благодарность проф. В. Дженнингсу за консультации в процессе перевода книги.

В. Березкин

Предисловие

До недавнего времени на каждую незаполненную хроматографическую колонку нового типа выдавали специальный патент. Отсутствие коммерческой конкуренции отнюдь не способствовало выявлению всех потенциальных возможностей этих колонок; большинству исследователей приходилось самим изготавливать незаполненные колонки, а стеклянных капиллярных колонок совсем не было в продаже. Несколько позднее весьма ограниченное число таких колонок начали поставлять швейцарская и шведская фирмы. Основной прогресс в области хроматографии на стеклянных незаполненных колонках, и особенно в области их практического применения, был достигнут благодаря тем исследователям, которые в интересах своей работы вынуждены были заняться технологией изготовления стеклянных капиллярных колонок. После недавнего истечения срока действия патентов появилось несколько фирм, которые решили воспользоваться результатами этих разрозненных усилий; наконец-то требовательный хроматографист-практик получил возможность приобретать готовые стеклянные капиллярные колонки разнообразных типов, а также вспомогательное оборудование. Эта книга задумана как введение в технологию работы со стеклянными капиллярными колонками в помощь исследователю при выборе, установке, оценке качества и практической работе с такими колонками.

Глава 1

ВВЕДЕНИЕ

1.1. ОБЩИЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Хроматография — общее название процессов разделения, основанных на непрерывном динамическом распределении компонентов разделяемой смеси между двумя фазами: обычно одна из этих фаз неподвижна, другая — подвижна. Если подвижная фаза — газ, то в качестве неподвижной фазы можно применять жидкость или твердое тело; наиболее точные названия соответствующих процессов разделения — *газожидкостная распределительная хроматография** и *газотвердофазная распределительная хроматография*. Первый из этих процессов (рассмотрением которого и ограничимся) часто называют просто *газовая хроматография* или сокращенно ГХ**. Иногда можно встретить сокращения ГЖХ (газожидкостная хроматография) или ПФХ (парофазная хроматография), но, за некоторыми исключениями, эти сокращения можно встретить лишь в ранней литературе.

В процессе газовой хроматографии неподвижная жидкая фаза находится в длинной трубке — колонке в виде тонкой пленки, нанесенной либо на *инертный зернистый носитель* (насадочные колонки), либо на

* Чистая газожидкостная хроматография пока не реализована. Известные методы, строго говоря, относятся к газо[жидко — твердо]фазной хроматографии (в квадратных скобках указана неподвижная фаза: жидкость, нанесенная на твердое тело, твердый носитель). В качестве твердого носителя используют обычно диатомит или внутренние стенки капиллярной колонки. (См., например, Березкин В. Г. Пахомов В. П., Татаринский В. С., Фатеева В. М. — ДАН СССР, 1968, 180, с. 135.) — *Прим. ред.*

** Под термином *газовая хроматография* понимают обычно хроматографические методы, в которых в качестве подвижной фазы используют газ или пар, т. е. газовая хроматография включает как газожидкостную, так и газотвердофазную хроматографию. — *Прим. ред.*

внутренние стенки колонки (незаполненные колонки с жидкой фазой на стенках). Колонку, которая начинается у входа в газовый хроматограф и заканчивается у детектора, нагревают до нужной температуры и сквозь нее непрерывно пропускают поток подвижной газовой фазы (газа-носителя). Анализируемую смесь летучих веществ вводят в начало колонки. Компоненты смеси, попадающие в поток газа-носителя, увлекаются им по направлению к детектору. При этом молекулы тех компонентов, которые легче растворяются в неподвижной жидкой фазе или имеют к ней большее сродство, реже попадают в поток газа-носителя и медленнее продвигаются к детектору, чем молекулы компонентов, имеющих меньшее сродство к неподвижной фазе; этим и обеспечивается разделение.

Основная цель автора данной книги — дать начальные практические рекомендации по выбору, установке, оценке характеристик и применению высокоэффективных незаполненных стеклянных капиллярных колонок. Однако при этом полезно хотя бы бегло ознакомиться с теорией газовой хроматографии. Используемые в дальнейшем обозначения и терминология приведены в приложении I.

1.2. ТЕОРИЯ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА

В ходе газохроматографического разделения анализируемое соединение некоторое время находится в неподвижной жидкой фазе, а затем — в подвижной газовой фазе. Равновесное распределение анализируемого вещества между фазами характеризуют константой распределения K_D , определяемой как отношение концентраций анализируемого вещества в жидкой и газовой фазах

$$K_D = \frac{\text{концентрация вещества в жидкой фазе}}{\text{концентрация вещества в газовой фазе}} \quad (1.1)$$

K_D характеризует истинно равновесное распределение: величина этой константы зависит только от

природы анализируемого соединения, природы жидкой фазы и температуры колонки. Следует ожидать, что эфиры в гораздо большей степени, чем углеводороды, должны растворяться в полиэфирных жидких фазах и вступать с ними в межмолекулярные взаимодействия. И действительно, по отношению к полиэфирной жидкой фазе величина K_D для эфира больше величины K_D для углеводорода с аналогичной длиной цепи. С повышением температуры колонки растет давление паров обоих веществ и уменьшаются соответствующие им величины K_D , но при этом величина K_D для эфира остается больше соответствующей величины для углеводорода. Ясно, что в гомологическом ряду большие значения K_D имеют высшие гомологи, характеризующиеся меньшим давлением паров.

В идеальных условиях очень узкая хроматографическая зона соединения, введенного в колонку, не меняет своей формы по мере продвижения вдоль колонки: когда такая узкая концентрированная зона выходит из колонки, ее можно направить в детектор. В действительности же такие факторы, как продольная диффузия вещества в жидкой и газовой фазах, вызывают расширение зоны анализируемого соединения в ходе хроматографического процесса. По мере продвижения смеси вдоль колонки центры хроматографических зон компонентов, характеризующихся разными величинами K_D , все больше удаляются друг от друга, но в зависимости от эффективности колонки процесс расширения зон может привести к тому, что растянутый задний фронт зоны более быстро движущегося компонента частично перемешается с передним фронтом более медленно движущегося компонента, в результате чего произойдет неполное разделение и будет наблюдаться наложение хроматографических пиков (рис. 1.1). Отсюда следует, что эффективность разделения двух компонентов зависит не только от степени их относительного удерживания (см. ниже), но и от степени происходящего в колонке расширения хроматографических зон. О разделительной эффективности хроматографической колонки судят по происходящему в ней расширению хромато-

графических зон: в высокоэффективной колонке степень расширения зон на единицу длины колонки минимальна; в менее эффективной колонке степень расширения зон на единицу длины колонки больше.

Не удивительно, что газовую хроматографию стали сопоставлять с процессом фракционированной перегонки, поскольку оба эти метода предназначены для разделения смесей летучих соединений, и что терминологию, используемую в процессах перегонки (например, «теоретическая тарелка»), стали применять, хотя и не всегда удачно, при описании процесса газовой хроматографии (см. далее).

Как уже было сказано, разделительную эффективность газохроматографической колонки связывают со степенью расширения хроматографической зоны соединения (которая зависит от ширины зоны ω), приведенной к интервалу времени, в течение которого зона проходит колонку (ко времени удерживания t_R). Число теоретических тарелок n определяется следующим образом:

$$n = 16 \left(\frac{t_R}{\omega_b} \right)^2 = 5,54 \left(\frac{t_R}{\omega_{0,5}} \right)^2, \quad (1.2)$$

где t_R — время или расстояние на временной оси хроматограммы между точкой ввода разделяемой смеси в колонку и максимумом хроматографического пика; ω_b — идеализированная ширина хроматографического

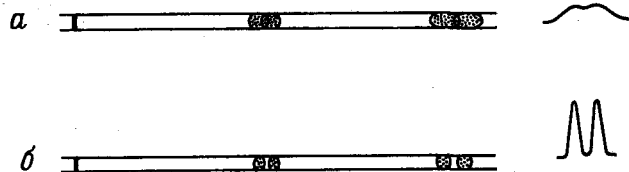


РИС. 1.1. Расширение хроматографических зон и его влияние на форму хроматографических пиков и на степень разделения компонентов.

Центры двух зон одинаково разделены на обеих колонках, но чрезмерное расширение зон в малоэффективной колонке *а* приводит к перемешиванию разделяемых компонентов. В конце колонки *б* концентрации разделяемых компонентов относительно малы, и их хроматографические зоны расширены, в результате чего получаются низкие и широкие хроматографические пики; *б* — высокоэффективная колонка.

пика у его основания; $\omega_{0,5}$ — ширина хроматографического пика на половине его высоты (т. е. на уровне точки перегиба пика). Разумеется, величины t_R и ω следует измерять в одних и тех же единицах. Исключительно важное значение имеет точность измерений величины ω или $\omega_{0,5}$, поэтому эту операцию следует производить только оптическим микрометром. Трудно поверить в то, насколько широко распространены серьезные ошибки, связанные с этим измерением. Величину $\omega_{0,5}$ следует измерять на половине высоты хроматографического пика между центрами (по толщине линии) проведенных пером самописца линий на возрастающей и убывающей ветвях хроматографической кривой, полагаясь на то, что на обоих участках закрепленное в держателе перо самописца не меняет наклона. Результат измерения получается более надежным, если хроматограмму наложить на освещенный экран такого типа, который применяют для просмотра рентгеновских снимков, и вести измерение оптическим микрометром с увеличивающей линзой. Отсчет обычно ведут от наружной стороны одной линии до внутренней стороны другой; ввиду того что при оптическом увеличении края линий выглядят неровными и ширина линии не везде одинакова, в измерении все же присутствует некоторый произвол. Иногда в случае очень узких пиков оба замера приходится вести от внешних краев линий и затем вычитать из полученного результата среднюю толщину линии. Как это ни удивительно, но возникающие при этом ошибки измерений чаще всего оказываются смещенными в сторону, выгодную для публикующего свои результаты исследователя.

Ясно, что продольная диффузия (и следовательно, разбавление разделяемых компонентов газом-носителем) в колонке — основной фактор, приводящий к расширению хроматографических зон*; компоненты

* Основными причинами размывания хроматографической зоны являются продольная диффузия и конечная скорость массопередачи анализируемых соединений между подвижной и неподвижной фазами. В зависимости от условий эксперимента любая из указанных причин может быть основной. — *Прим. ред.*

с меньшей молекулярной массой (обычно характеризующиеся меньшими значениями K_D) должны диффундировать с большей скоростью, чем более тяжелые компоненты. На скорость диффузии влияет и плотность газа-носителя. Следовательно, величина n зависит не только от эффективности колонки, но и от ее температуры, природы анализируемого соединения, типа газа-носителя и степени его сжатия (см. ниже).

Чтобы перенести сквозь колонку не абсорбирующееся в ней соединение, такое, как воздух, требуется определенный объем газа-носителя. Этот объем обозначают символом t_M . Высокочувствительные детекторы, необходимые для большинства незаполненных колонок, не чувствительны к воздуху, поэтому величину t_M обычно оценивают по переднему фронту хроматографического пика метана, поскольку при умеренных температурах метан характеризуется пренебрежимо малым значением K_D . Величину t_M можно вычислить и по параметрам удерживания трех членов гомологического ряда (см. разд. 7.2). Ясно, что процесс хроматографического разделения никак не зависит от величины t_M ; действительно, подсоединив к началу колонки очень длинную и тонкую трубку, можно получить очень большую величину t_M , а следовательно, и очень большие значения t_R . В результате получится непомерно высокое число теоретических тарелок n , характеризующее такую колонку. Удобнее пользоваться исправленным временем удерживания, равным

$$t'_R = t_R - t_M. \quad (1.3)$$

По этой величине вычисляют число эффективных теоретических тарелок N

$$N = 16 \left(\frac{t'_R}{\omega_h} \right)^2 = 5,54 \left(\frac{t'_R}{\omega_{0,5}} \right)^2. \quad (1.4)$$

Принятые способы определения числа теоретических тарелок и эффективных теоретических тарелок иллюстрирует рис. 1.2.

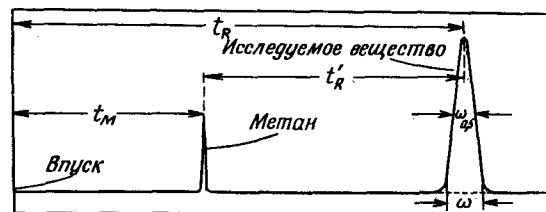


РИС. 1.2. Методики определения числа теоретических тарелок n и числа эффективных теоретических тарелок N :

$$n = 16 \left(\frac{t_R}{\omega} \right)^2 = 5,54 \left(\frac{t_R}{\omega_{0,5}} \right)^2; N = 16 \left(\frac{t'_R}{\omega} \right)^2 = 5,54 \left(\frac{t'_R}{\omega_{0,5}} \right)^2, \text{ где } t'_R = t'_R +$$

+ t_M — идеализированная ширина хроматографического пика стандартного вещества по нулевой линии: $\omega_{0,5}$ — ширина этого пика на половине его высоты. Имеются сообщения, что более точные результаты получаются при измерении t'_M по переднему фронту пика метана (гл. 7, работа [14]).

Чем длиннее колонка, тем большим числом теоретических тарелок она характеризуется (при одной и той же эффективности на единицу длины), однако из-за наличия разных факторов, связанных, например, с повышенными перепадами давлений на колонке (см. ниже), эта зависимость оказывается нелинейной. Учитывая это, эффективность колонки иногда характеризуют числом теоретических тарелок на один метр длины колонки, например n (или N) на один метр. Однако чаще пользуются обратной величиной — длиной участка колонки, соответствующего одной теоретической тарелке. И вновь, заимствуя терминологию, принятую для описания процессов перегонки, эту величину называют высотой, эквивалентной теоретической тарелке (ВЭТТ). Обычно ее выражают в миллиметрах и обозначают буквой h

$$h = \frac{L}{n}, \quad (1.5)$$

где L — длина колонки. Высоту, эквивалентную одной эффективной теоретической тарелке (ВЭТТ), обозначают буквой H

$$H = \frac{L}{N}. \quad (1.6)$$

Ясно, что малое значение h (или H) свидетельствует об эффективности колонки и о ее высокой разделительной способности. Если колонка работает в оптимальных условиях (см. ниже), то соответствующие значения h (или H) обозначают $h_{\min}$ (или $H_{\min}$). Поскольку на значения n (и N) влияют температура колонки, природа анализируемого соединения и природа газа-носителя, то и эти же факторы влияют и на величины h (и H) (см. ниже). Как уже было отмечено выше, находящееся в колонке соединение часть времени проводит в газовой фазе и остальное время в жидкой фазе. Ясно, что сумма этих времен и составляет наблюдаемое время удерживания анализируемого соединения. В промежутке времени, в течение которого вещество находится в подвижной фазе, оно движется в направлении детектора с той же скоростью, что и газ-носитель. Следовательно, независимо от времени удерживания все вещества проводят в газовой фазе одно и то же время, равное t_m . Поэтому время, проводимое веществом в неподвижной жидкой фазе, равно исправленному времени удерживания t'_R . Мерой того, насколько долго молекулы данного вещества находятся в неподвижной фазе относительно времени их нахождения в газовой фазе, является коэффициент емкости (или коэффициент извлечения) k :

$$k = \frac{t'_R}{t_m}. \quad (1.7)$$

Выражение (1.4) можно переписать в виде

$$N = n \left(\frac{k}{k+1} \right)^2. \quad (1.8)$$

Для веществ, характеризующихся очень большими значениями коэффициента емкости (т. е. большим K_D и большим временем удерживания),

$$\frac{k}{k+1} \simeq 1 \text{ и } N \simeq n.$$

Взаимосвязь между коэффициентом емкости и величинами n и N видна из приведенной на рис. 1.3 экс-

периментальной хроматограммы; на рис. 1.4 эта взаимосвязь приведена графически. На рис. 1.5—1.8 показаны графики теоретических зависимостей величины $h_{\min}$ (или $H_{\min}$) от радиуса колонки и коэффициента емкости для конкретного соединения. Эти графики могут пригодиться при сравнении данных по испытанию колонок, представленных разными фирмами (см. также рис. 8.3—8.5).

Ясно, что доля времени k , проводимого веществом в неподвижной жидкой фазе, должна быть связана с коэффициентом распределения K_D этого вещества. В соответствующей зависимости должно учитываться относительное соотношение газовой и жидкой фаз (т. е. занимаемые ими относительные объемы колонки); эту величину обозначают β и определяют ее следующим образом:

$$\beta = \frac{V_G}{V_L}. \quad (1.9)$$

Тогда зависимость между k и K_D имеет вид

$$K_D = \beta k. \quad (1.10)$$

Понятно, что величина β — мера «незаполненности» колонки и что величины β для незаполненных колонок должны быть значительно больше соответствующих величин для насадочных колонок, в которых насадка не только ограничивает объем, занимаемый газом-носителем, но и увеличивает площадь поверхности слоя неподвижной жидкой фазы. Насадочные колонки обычно характеризуются значениями β в пределах 5—35, а незаполненные колонки — в пределах 50—1500.

Площадь внутренней поверхности незаполненной колонки (которой определяется объем V_L при постоянной толщине пленки неподвижной жидкой фазы) пропорциональна диаметру колонки, а объем колонки (которым определяется величина V_G) пропорционален квадрату внутреннего радиуса колонки, измеряемого от оси колонки до поверхности пленки жидкой фазы на ее стенках. Поэтому и диаметр колонки,

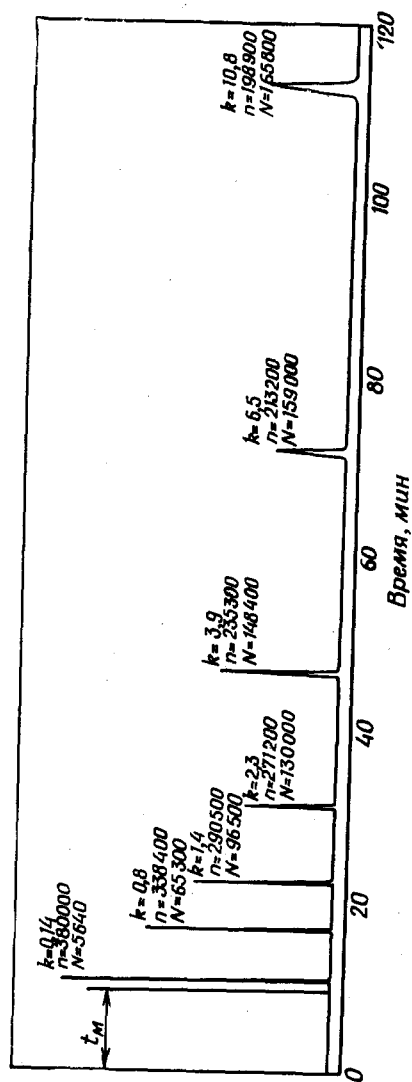


РИС. 1.3. Экспериментальная хромотограмма, отражающая влияние коэффициента емкости k стандартного соединения на число теоретических n и эффективных теоретических N' тарелок. Стеклопая капиллярная колонка типа ОНС с неподвижной жидкой фазой SE 30 при температуре 130 °C; разделяемая смесь — линейные алканы от C_1 до C_{12} . Отклонение от теоретической зависимости уравнения (1.8) составляет примерно 2%.

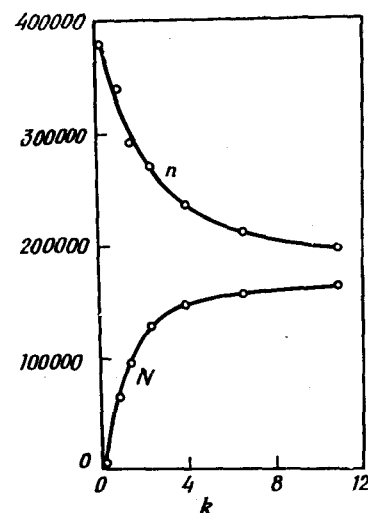


РИС. 1.4. Экспериментальные графики зависимости числа теоретических n и эффективных теоретических N тарелок от коэффициента емкости k .

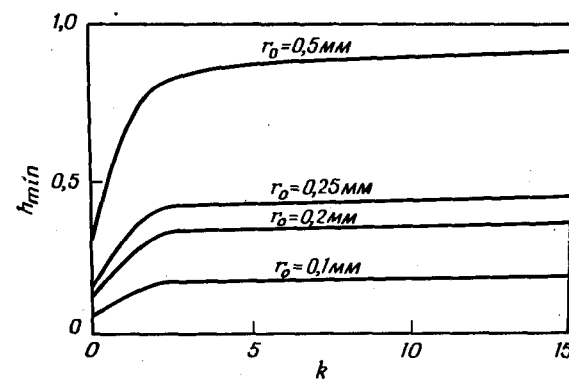


РИС. 1.5. Зависимость минимальной высоты, эквивалентной теоретической тарелке h_{min} от коэффициента емкости k для разделения стандартных соединений на колонках разного радиуса.

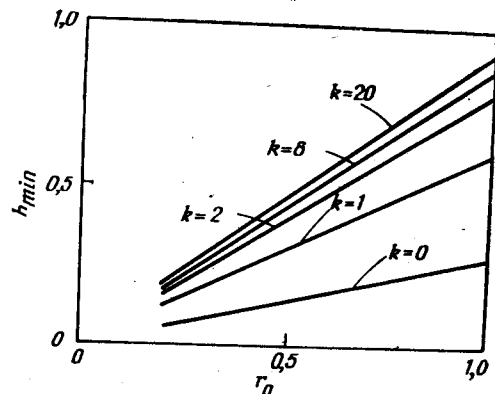


РИС. 1.6. Зависимость минимальной высоты, эквивалентной теоретической тарелке $h_{\min}$ от радиуса колонки r_0 для соединений с разными коэффициентами емкости k .

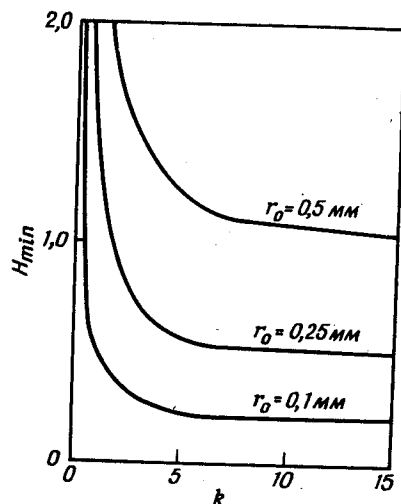


РИС. 1.7. Зависимость минимальной высоты, эквивалентной эффективной теоретической тарелке $H_{\min}$ от коэффициента емкости k для разделения стандартных соединений на колонках разного радиуса.

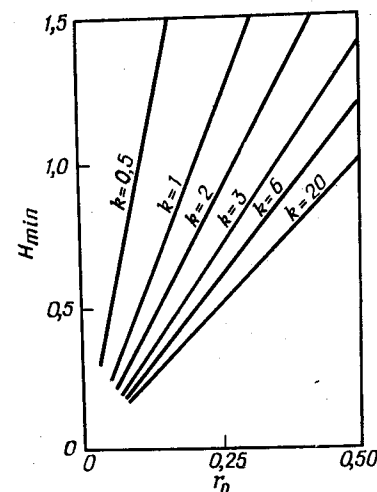


РИС. 1.8. Зависимость минимальной высоты, эквивалентной эффективной теоретической тарелке $H_{\min}$ от радиуса колонки r_0 для соединений с разными коэффициентами емкости k .

и толщина пленки неподвижной жидкой фазы влияют на величину β

$$\beta = r_0 / 2d_f. \quad (1.11)$$

Эта зависимость приведена на рис. 1.9.

Вернемся к выражению (1.10). Выше уже было отмечено, что величина $K_D = \beta k$ зависит только от природы анализируемого вещества, природы неподвижной жидкой фазы и температуры колонки; она не зависит от таких параметров, как диаметр колонки или толщина пленки неподвижной жидкой фазы. Но поскольку K_D есть произведение βk , то с увеличением β коэффициент k должен уменьшаться и наоборот. Чтобы подробнее изучить эту зависимость, будем рассуждать следующим образом. При постоянных прочих параметрах в колонках большого диаметра больше объем газовой фазы, и, следовательно, им соответствуют большие значения величины $\beta = V_G / V_L$. С увеличением объема газовой фазы

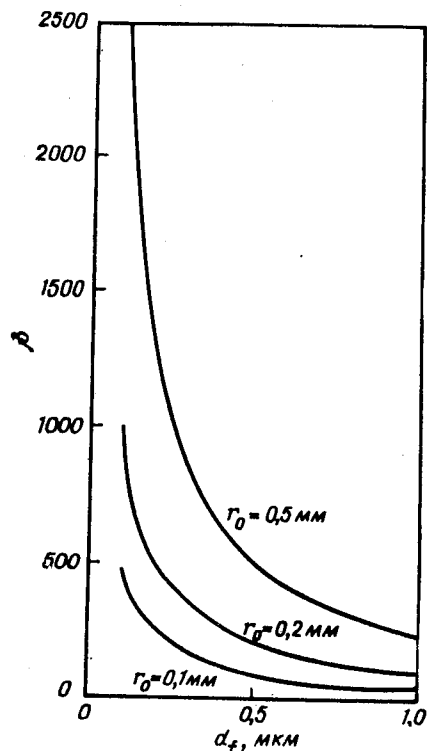


РИС. 1.9. Величины β для колонок разного радиуса, вычисленные по уравнению (1.11).

в колонке изменяется поведение каждого анализируемого вещества. Величина K_D была определена выше как отношение c_L/c_G [выражение (1.1)]. Концентрации c_L и c_G — массы анализируемого вещества в единицах объема газовой и жидкой фаз соответственно. В колонках с большими значениями β , т. е. с большим соотношением фаз газ — жидкость, в любой момент времени большая часть массы анализируемого вещества находится в подвижной фазе. Следовательно, абсолютная величина удерживания уменьшается с ростом β ; с увеличением диаметра колонки умень-

шается d_f и сокращается время анализа. Все эти изменения в одинаковой степени влияют на все растворенные вещества, поэтому относительные времена удерживания остаются при этом неизменными.

Описанную взаимосвязь между временем удерживания, эффективностью разделения и величиной β легко можно проиллюстрировать количественно. Рассмотрим две колонки с одной и той же неподвижной жидкой фазой. Пусть вторая колонка имеет больший диаметр, но ту же, что и первая, толщину пленки неподвижной жидкой фазы (или тот же диаметр, что и первая, но меньшую толщину пленки неподвижной жидкой фазы) так что $\beta_2 > \beta_1$; пусть, кроме того, скорости потоков газа-носителя в колонках подобраны так, что $t_{M(1)} = t_{M(2)}$. Если температуры колонок одинаковы, то для одного и того же анализируемого вещества имеем $K_{D(1)} = K_{D(2)}$ (разд. 1.2). Из равенства $K_D = \beta k$ [выражение (1.10)] и условия $\beta_{(1)} < \beta_{(2)}$ следует, что $k_1 > k_2$ или [см. уравнение (1.7)] $t'_{R(1)}/t_{M(1)} > t'_{R(2)}/t_{M(2)}$. Далее, поскольку $t_{M(1)} = t_{M(2)}$, то из последнего неравенства получим $t'_{R(1)} > t'_{R(2)}$ и, следовательно, вторая колонка будет характеризоваться меньшими временами удерживания и большими скоростями анализа. В то же время, поскольку во второй колонке время пребывания анализируемых веществ в неподвижной жидкой фазе меньше (меньше величина t'_R), то эта колонка окажется менее эффективной по разделению.

Величину β для любой колонки можно определить, сравнив ее с другой колонкой, для которой эта величина известна. Если известно количество неподвижной жидкой фазы в колонке и если считать, что эта жидкость равномерно нанесена на внутренние стенки колонки статистическим методом (вполне приемлемое допущение, см. ниже), то значение β для этой колонки можно вычислить по формуле (1.11). Затем можно прохроматографировать на этой колонке стандартное соединение и, измерив величину t_M , вычислить по формуле (1.7) значение k для этого соединения. После этого можно определить K_D для данного соединения, которое должно быть одним и тем же

для любой колонки с данной неподвижной жидкой фазой при той же температуре. Если затем прохроматографировать данное стандартное соединение на новой колонке в тех же условиях, то значение β для новой колонки легко можно найти по формуле (1.10).

1.3. РАЗДЕЛЕНИЕ КОМПОНЕНТОВ СМЕСИ

Как видно из рис. 1.10, степень разделения компонентов смеси зависит от 1) отношения их времен удерживания, 2) от остроты (размывания) их хроматографических пиков (или от числа теоретических тарелок, характеризующего данную колонку).

Отношение исправленных времен удерживания двух компонентов смеси A и B называют их *фактором разделения*

$$\alpha_{A/B} = t'_{R_A} / t'_{R_B}. \quad (1.12)$$

Величину α определяют так, чтобы ее значения превышали единицу. Два компонента, характеризующиеся большим значением α , относительно легко можно разделить даже на малоэффективной колонке, но чем ближе значение α к единице, тем большим числом теоретических тарелок должна характеризоваться колонка, необходимая для разделения соответствующих компонентов. Разумеется, иногда можно взять другую неподвижную жидкую фазу, для которой фактор разделения нужных компонентов выше.

Степень разделения двух компонентов характеризуют и так называемым *критерием разделения* R_s

$$R_s = \frac{2(t'_{R_A} - t'_{R_B})}{\omega_{b_A} + \omega_{b_B}}. \quad (1.13)$$

Эта величина определяется как временами удерживания, так и шириной хроматографических пиков компонентов. Как видно из рис. 1.11, на котором приведены «идеализированные» хроматографические пики,

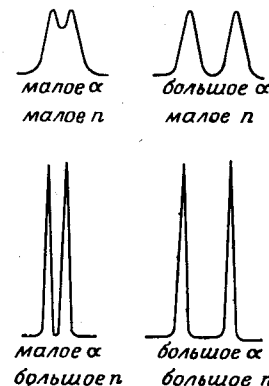


РИС. 1.10. Связь эффективности колонки (числа теоретических тарелок) n с фактором разделения α .

значение $R = 1,0$ соответствует заметному наложению пиков друг на друга. Значение $R = 1,5$ соответствует более глубокому разделению — основания хроматографических пиков. Это особенно важно учитывать при разделении относительно малого количества одного компонента от относительно большого количества другого компонента, который к тому же имеет хроматографический пик с растянутым задним фронтом (см. рис. 1.12).

Если $\omega_1 = \omega_2$, то выражение (1.13) можно представить в виде

$$R_s = \frac{n^{1/2}}{4} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{k}{k + 1} \right). \quad (1.14)$$

откуда следует, что значение критерия разделения пропорционально корню квадратному из числа теоретических тарелок (или длины колонки) и что эта величина зависит и от коэффициента емкости k . При больших значениях k член $k/(k + 1)$ примерно равен 1, но при малых k он меньше единицы. Следовательно, большей величиной критерия разделения характеризуются те соединения, которые позже выходят из колонки (т. е. те, для которых больше величина k).

Еще одно полезное свойство выражения (1.14) заключается в том, что с его помощью, зная величину α любых двух соединений, можно довольно

точно оценить число теоретических тарелок, необходимых для получения заданной степени разделения этих соединений

$$N_{\text{рег}} = 16R_s^2 \left(\frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2. \quad (1.15)$$

Некоторые фирмы характеризуют производимые ими колонки числом теоретических тарелок n , а не числом эффективных теоретических тарелок N ; при помощи стандартных соединений, характеризующихся относительно малыми значениями k , можно получить более полное представление об эффективности этих колонок (рис. 1.5—1.8 и 8.3—8.5). Сравнивая колонки, полученные от разных фирм, использующих разные системы паспортных данных, полезно помнить, что

$$N \left(\frac{k+1}{k} \right)^2 = n$$

и, следовательно,

$$n_{\text{рег}} = 16R_s^2 \left(\frac{\alpha}{\alpha - 1} \right)^2 \left(\frac{k+1}{k} \right)^2. \quad (1.16)$$

Несколько ценных понятий содержит уравнение Ван-Деемтера [1], которое позволяет оценить относительное влияние разных параметров на эффективность хроматографической колонки. В сокращенной форме это уравнение имеет вид

$$h = A + \frac{B}{\bar{u}} + C\bar{u}, \quad (1.17)$$

где A — фактор, характеризующий природу и структуру насадки; B — фактор, характеризующий продольную диффузию; C — фактор, характеризующий сопротивление массопереносу из газовой фазы в жидкую и обратно (см. ниже); $\bar{u}$ — средняя линейная скорость потока газа-носителя. Для колонки длиной L

$$\bar{u} = L/t_M. \quad (1.18)$$

В незаполненных колонках нет насадки, и член A для них равен нулю; в результате уравнение

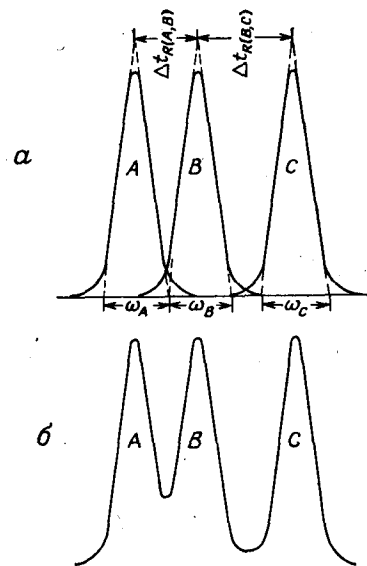


РИС. 1.11. Разделение трех компонентов А, В и С.

$\omega_A = \omega_B = \omega_C$; $\Delta t_R(A, B) = \Delta t_R(B, C) = 1,5\omega_C$. а — вклад каждого компонента в сигнал детектора, идеализированная форма хроматографического пика; б — результат регистрации самописцем сигнала детектора. $R_s(A, B) = 1,0$ — заметно значительное наложение пиков; $R_s(B, C) = 1,5$ — наложение пиков незначительно.

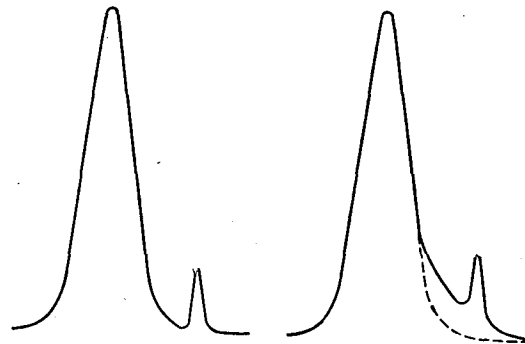


РИС. 1.12. Помехи разделению вследствие расширения задних фронтов хроматографических пиков.

В первом случае разделение дает гораздо более чистый примесный компонент, пик которого следует за симметричным пиком основного компонента, чем во втором случае, когда пик примесного компонента налагается на расширенный задний фронт пика основного компонента.

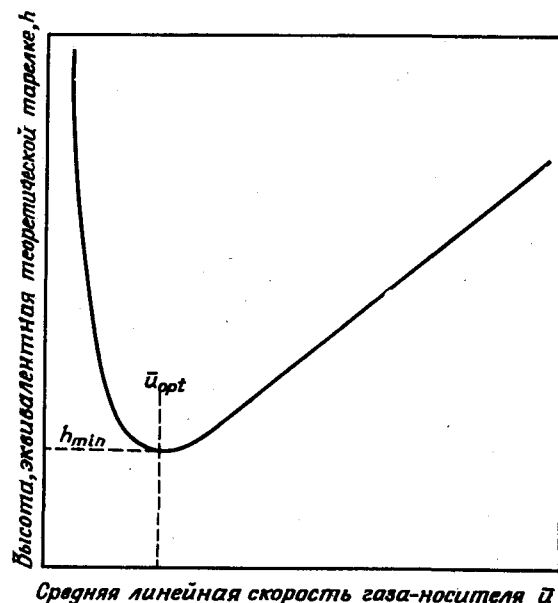


РИС. 1.13. Типичная кривая Ван-Деемтера.

Ван-Деемтера принимает вид, известный как уравнение Голя [2]

$$h = B/\bar{u} + C\bar{u}. \quad (1.19)$$

Отсутствие влияния фактора A — одно из основных преимуществ голеевских или незаполненных колонок. Считают, что очень высокой эффективности незаполненных колонок способствуют, по крайней мере частично, и другие факторы, такие, как высокие значения величины β , лимитирующий перепад давлений на колонке, получаемый при довольно значительной ее длине, отсутствие точек соприкосновения между частицами твердого носителя, покрытого пленкой неподвижной жидкой фазы, уменьшение вероятности нарушения равномерности по толщине тонкой пленки жидкой фазы.

Ясно, что наша цель — обеспечить по возможности меньшие значения h (или H), что эквивалентно возможно большим значениям n (или N). Поскольку в величину h входит член $B/\bar{u}$, обратно пропорциональный $\bar{u}$, и член $C\bar{u}$, прямо пропорциональный $\bar{u}$, то должно существовать некоторое оптимальное значение $\bar{u}$, при котором эффективность колонки максимальна. Эту величину можно вычислить или определить графически; по этому поводу читатель может обратиться к более общим или специальным теоретическим работам [3—5]*. Типичная кривая Ван-Деемтера приведена на рис. 1.13.

Литература

1. Van Deemter J. J., Zuiderweg F. J., Klinkenberg A., Chem. Sci., 5, 271 (1956).
2. Golay M. J. E., Theory and Practice of Gas Liquid Partition Chromatography with Coated Capillaries, in «Gas Chromatography» (V. J. Coates, H. J. Noebels, I. S. Fagerson, eds.), pp. 1—13. Academic Press, New York, 1958.
3. Littlewood A. B., «Gas Chromatography: Principles, Techniques, Applications», 2nd ed. Academic Press, New York, 1970.
4. Kaiser R., «Chromatographie in der Gasphase», 3rd ed., Vol. II. Bibliographisches Institut, Mannheim, 1975.
5. Ettre L. S., «Open Tubular Columns in Gas Chromatography», Plenum Press, New York, 1965.

* Дополнительная литература

1. Ногаре С. Д., Джувет Р. С. Газожидкостная хроматография. Пер. с англ. — Л.: Недра, 1966.
2. Киселев А. В., Яшин Я. И. Адсорбционная газовая и жидкостная хроматография. — М.: Химия, 1979.
3. Руденко Б. А. Капиллярная хроматография. — М.: Наука, 1978.

Глава 2

СТЕКЛЯННЫЕ КАПИЛЛЯРНЫЕ КОЛОНКИ

2.1. ВВЕДЕНИЕ

Эттре [1] отмечал, что существует большая путаница в терминологии, применяемой для описания незаполненных колонок и колонок капиллярных размеров. Следуя его предложению, автор называет открытыми капиллярными колонками с жидкой фазой на стенках (ОНС) те колонки, в которых неподвижная жидкая фаза нанесена непосредственно на внутренние стеклянные стенки без использования любых добавок, которые можно было бы считать твердым носителем. Открытыми капиллярными колонками с пористым закрепленным слоем на стенках (ОЗПС) автор называет колонки, площадь внутренней поверхности которых увеличена путем нанесения таких веществ, как плавленный кварц [2] или кристаллы соли [3]. Открытыми колонками с незакрепленным пористым слоем (ОНПС) автор называет колонки, внутренняя поверхность которых покрыта каким-либо твердым материалом-носителем, на который нанесена неподвижная жидкая фаза [4]. Термин *капилляр* Эттре оставляет для трубок капиллярных размеров без неподвижной жидкой фазы, но этот термин не является общепринятым.

Исключительные свойства стекла в качестве материала для изготовления хроматографических колонок были признаны уже давно; поверхность такой колонки обладает большой инертностью и не склонна вступать в реакции с хроматографируемыми веществами; кроме того, в стеклянной колонке очень легко обнаруживаются дефекты поверхности. По этим причинам стеклянными колонками давно пользуются

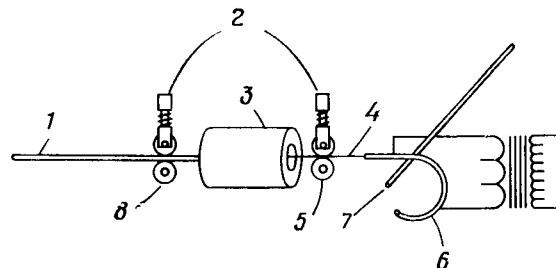


РИС. 2.1. Схема устройства для вытягивания стеклянных капилляров. (По Дести [5].) Обычно в конструкции предусматривается постоянная скорость вытягивания и возможность регулирования скорости подачи трубки, температуры печи и температуры изгибающей трубки. При увеличении скорости подачи трубки или при уменьшении температуры печи (в допустимых пределах) получается капилляр большего диаметра. При слишком высокой температуре изгибающей трубки получается волнообразно изогнутый деформированный капилляр; слишком низкая температура изгибающей трубки приводит к частым поломкам капилляра.

1 — стеклянная трубка; 2 — прижимные ролики; 3 — печь; 4 — капилляр; 5 — вытягивающий ролик; 6 — изгибающая трубка; 7 — стержень, поддерживающий спиральный капилляр; 8 — подающий ролик.

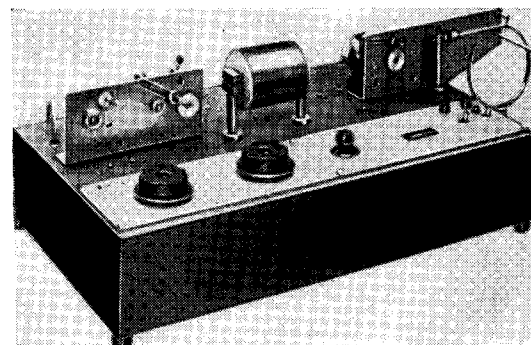


РИС. 2.2. Устройство для вытягивания капилляров фирмы Hewlett-Packard (разработано бывшей фирмой Nure) с горизонтальным расположением спирали и с высокоточной электрической печью малого напряжения.

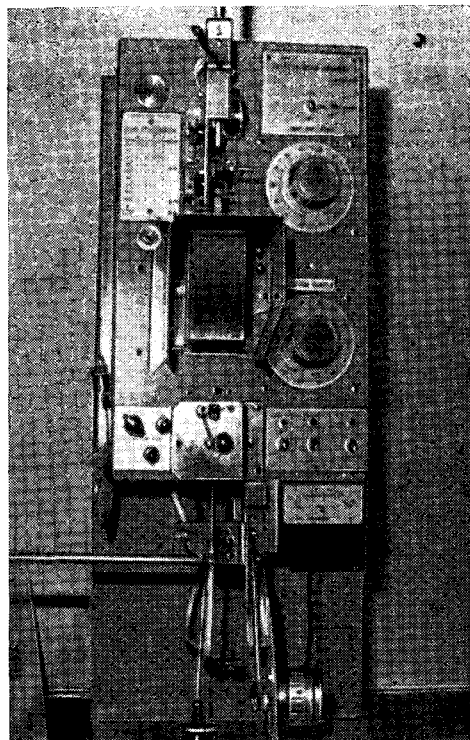


РИС. 2.3. Устройство для вытягивания капилляров фирмы Shimadzu с вертикальным расположением спирали и слабوتочной электрической печью.

многие исследователи. В 1961 г. Дести и сотр. [5] предложили простое устройство для вытягивания и изгибания стеклянных трубок в спираль. В этом устройстве имеется группа медленно вращающихся роликов, подающих стеклянную трубку (диаметром 6—10 мм) в электрическую печь. Вторая группа несколько быстрее вращающихся валиков вытягивает капилляр из печи и подает его в нагреваемую изгибающую трубку, благодаря которой из капилляра непрерывно формируется спираль (рис. 2.1). В про-

даже всегда имеются две модели такого устройства; в одной из них вытягивание идет в горизонтальной плоскости, а нагревателем служит отрезок трубки из нержавеющей стали, по которой пропускают электрический ток большой силы от низковольтного источника (рис. 2.2). Во второй модели стеклянная трубка движется в вертикальной плоскости, а нагревание ведется слаботочной керамической электрической печью, питаемой от источника напряжением 220 В (рис. 2.3). Имеются сведения, что выпуск подобного устройства планирует еще одна фирма.

Когда стеклянные капиллярные трубки стали легкодоступными, некоторые исследователи пытались применять их в качестве более инертного материала — твердого носителя в незаполненных хроматографических колонках. Эти ранние попытки не принесли большого успеха, и в подавляющем числе случаев наблюдался сильный разброс результатов анализа и их невоспроизводимость. Большинство прежних колонок были низкого качества и имели небольшой срок службы, но те из пионеров этой области, которые достигли желаемых результатов, пробудили большой интерес к стеклянным колонкам [6, 7]. Хроматограммы, полученные некоторыми первыми исследователями, показали, что на стеклянных незаполненных колонках можно добиться разделений, которые ранее были неосуществимы. Кроме того, на этих инертных колонках можно было вести разделение некоторых соединений, которые были слишком активны для насадочных или металлических открытых колонок. Эта многообещающая перспектива стимулировала интенсивные поиски, которые продолжаются и по сей день, когда исследователи пытаются лучше постичь взаимосвязь факторов, влияющих на процесс нанесения жидкой фазы на внутреннюю поверхность капиллярной колонки.

Более ясное понимание этого процесса, роли в нем рабочих параметров колонки и условий ее хранения принесли бы неоценимую пользу для разработки еще более эффективных и более стабильных колонок.

2.2. ПРЕДВАРИТЕЛЬНАЯ ОБРАБОТКА ПОВЕРХНОСТИ КОЛОНКИ

Химики, изучающие поверхностные явления, давно поняли, что степень взаимодействия между поверхностью твердого тела и жидкостью — смачивание — зависит от состояния поверхности твердого тела. Стекло, хотя оно и не является твердым телом в строгом смысле слова, ведет себя аналогичным образом. За исключением немногих известных случаев, жидкие фазы, небрежно наносимые на необработанные поверхности стеклянных колонок, образуют неудовлетворительный по хроматографическим свойствам слой; действующие в жидкости силы сцепления (силы когезии) обычно превышают силы сцепления (силы адгезии) между жидкостью и поверхностью стекла, в результате чего жидкость ложится на поверхность отдельными участками и каплями (рис. 2.4). Результаты разделений на такой колонке окажутся совершенно неудовлетворительными, поскольку в ней не будет выполняться требование равномерности слоя неподвижной жидкой фазы, весьма существенное для получения высокоэффективных разделений.

Для решения этой проблемы было предложено несколько способов изменения смачиваемости внутренней поверхности стеклянной колонки. Один из этих способов заключается в использовании поверхностно-активных или смачивающих реагентов, другие — в изменении характеристик самой поверхности. Смачивающий реагент обычно играет двойную роль. В идеальном случае он уменьшает поверхностное натяжение жидкой фазы и уменьшает краевой угол между поверхностью стекла и жидкостью, в свою очередь способствуя лучшему смачиванию поверхности и правильному распределению на ней жидкой фазы. В некоторых случаях смачивающий реагент блокирует большую часть активных центров адсорбции, т. е. действует как добавка, предотвращающая расширение задних фронтов хроматографических зон.

Наиболее распространены такие смачивающие реагенты, как соединения четвертичного аммония [8],



РИС. 2.4. Микрофотография сильно поврежденной колонки.

соединения фосфония [9], неионогенные моющие средства [10], а также небольшие добавки других более полярных жидких фаз. Меньшая термическая стабильность этих соединений по сравнению с жидкой фазой может потребовать снижения верхней границы диапазона рабочих температур данной колонки. Кроме того, при использовании этих соединений наблюдается небольшое, но заметное изменение характеристик удерживания данной колонки, которая начинает вести себя так, как если бы в ней была смесь двух неподвижных жидких фаз [11]. При малых добавках этот эффект незначителен.

Смачиваемость поверхности определенными жидкостями сильно зависит от ее шероховатости (действительная площадь поверхности/теоретическая площадь поверхности). Поверхности с микроскопической шероховатостью иногда смачиваются легче благодаря изменению краевого угла [12]. Достаточно хорошо полированная поверхность нержавеющей стали характеризуется шероховатостью $\sim 1,4$, а стеклянная поверхность, полированная в пламени, — около 1. Понимая, что травленная стеклянная поверхность должна иметь иную смачиваемость, некоторые исследователи изучали способы предварительной обработки поверхности с применением таких реагентов, как соляная кислота (обычно в форме сухого пара), раствор гидроксида натрия или плавиковая кислота, причем иногда при повышенных температурах. Один из наиболее эффективных способов обработки описали

Александр и Руттен [13, 14]. Капиллярную колонку из натрий-кальциевого стекла подсоединяют к колбе с твердым хлоридом натрия. Затем в колбу добавляют концентрированную серную кислоту, где образуется газообразный хлористый водород HCl , причем избыточное давление этого газа в колбе (0,1—0,3 атм) достаточно для проталкивания его сквозь колонку. Маленькой горелкой от колонки отрезают небольшой участок длиной в несколько сантиметров и окунают его в воду запаянным концом вверх. При растворении хлористого водорода уровень воды в капилляре поднимается, причем высота подъема характеризует относительную концентрацию HCl в колонке. Когда при испытании очередного отрезка вода заполнит его почти на 90%, колонку запаивают с обоих концов, травят при нагревании, после чего продувают сухим азотом для удаления из нее остатков паров.

Позднее те же исследователи [15], а также Бейдингс и сотр. [16] установили, что смачиваемость протравленной поверхности повышается не только благодаря увеличению ее шероховатости, но также, а быть может и в большей степени, благодаря высаливающему действию травильного реагента, в результате действия которого на стеклянной поверхности осаждаются микроскопические кристаллы соли.

Изучая общие способы придания шероховатости стеклянным поверхностям, Франкен и сотр. [17] заметили, что процесс травления натрий-кальциевого стекла хлористым водородом протекает легко, но является самолимитирующим. Вначале образуются сферические гранулы хлорида натрия, но при продолжительном нагревании появляются кристаллы кубической формы. Обширные исследования эффектов травления провели также Крупчик и сотр. [18]. Они отметили, что при анализе некоторых типов соединений колонки с травленной поверхностью дают более эффективное разделение. Онушка и Комба [19] обнаружили, что при травлении капилляров из боросиликатного стекла газообразным фтористым водородом образуется поверхность с «ворсистой» шероховатостью.

Стекло обладает чрезвычайно высокой поверхностной энергией, и получение истинно чистой стеклянной поверхности почти невозможно [20]. Чаше всего эта поверхность адсорбирует материалы (как правило, воду), которые модифицируют ее и которым она обязана своими свойствами. Повышение эффективности поверхности стекла травлением можно объяснить, по-видимому, тем, что в процессе травления вместо плохо смачиваемой гидратированной поверхности образуется легко смачиваемая поверхность, покрытая слоем соли [21, 22]. Позднее вместо травления стеклянные капилляры стали промывать растворами солей. После такого промывания колонку просушивали, в результате чего на ее поверхности оставался тонкий слой кристаллов соли, а затем обрабатывали поверхностно-активным реагентом и покрывали пленкой неподвижной жидкой фазы [23].

Дженнингс [24] считает, что адсорбированная вода, образующая гидратный слой на поверхности стекла, почти целиком удаляется с поверхности в процессе вытягивания капилляра; но этот слой затем вновь образуется при охлаждении его. По его мнению, если в процессе вытягивания капилляра непрерывно продувать сквозь него сухой газ и затем хранить готовый капилляр в запаянном виде, то в дальнейшем при заполнении капилляра пленка жидкой фазы прочно ляжет на дегидратированную поверхность и колонка будет значительно стабильнее. Эта идея легла в основу нового способа изготовления колонок, описанного Симоном и Жипси [25]: в открытый конец вытягиваемой стеклянной трубки вводят тефлоновую трубку вплоть до размягченного участка внутри нагревательной печи (трубка из нержавеющей стали еще более подходит для этой цели). Подаваемый в трубку поток сухого газа у размягченного участка поворачивает обратно и выносит десорбированные материалы через открытый конец стеклянной трубки. Авторы этого способа сообщают, что в этом случае дегидратированный капилляр полностью смачивается неполярными и большинством

полярных жидких фаз, что позволяет получить колонку повышенной стабильности.

Используя аналогичный прием, Диез и сотр. [26] продували вытягиваемую стеклянную трубку смесью азота и аммиака. Они отметили, что полученный таким способом капилляр из боросиликатного стекла обладает меньшей адсорбционной способностью и имеет более шероховатую поверхность. Хроматографические колонки из таких трубок давали прекрасные результаты при анализе полярных соединений, таких, как амины, пестициды и лекарственные препараты.

Гроб [7] обнаружил, что неполярные жидкие фазы типа апиезон можно наносить на необработанную поверхность стеклянных капилляров, вытянутых обычным способом, и что полярные жидкие фазы отталкиваются такими поверхностями. Он предложил модифицировать внутреннюю поверхность капилляра травлением и затем заполнять колонку азотом, насыщенным (при 0°C) дихлорметаном. После этого запаянную колонку следует нагреть до высокой температуры, дихлорметан в ней разложится, и образуется карбонизированная поверхность, на которую затем надо нанести неподвижную жидкую фазу. Сам Гроб предпочитает обрабатывать колонку, осаждавая на ее поверхности карбонат бария (см. ниже), однако некоторые исследователи продолжают успешно применять карбонизацию. Нота и сотр. [27] считают, что проще осаждавать на внутренних стенках колонки слой графита. Для этого они предлагают диспергировать ультразвуковым генератором графит в дихлорметане и при помощи насоса прокачивать полученный коллоидный раствор сквозь колонку.

В работе Шюлта [28] отмечено, что смачиваемость внутренней поверхности колонки улучшается при нанесении на нее тонкого слоя коллоидного раствора кремниевой кислоты. Колонки с таким покрытием обеспечивают хорошее разделение полярных соединений. Гроб рекомендует заполнять чистый капилляр раствором гидроксида бария. Затем этот раствор насыщают диоксидом углерода, в результате

чего на поверхности колонки осаждается слой карбоната бария. В работе [29] отмечают, что такой способ обработки позволяет получить очень стабильные, хотя и не слишком эффективные колонки.

Несколько исследователей изучили влияние силанизации поверхности стеклянных колонок перед нанесением на нее неподвижной жидкой фазы [30, 31]. Новотны и Грохмани [32] установили, что для этой цели наиболее эффективны моносиланы, и применяли монохлородиметил[3-(4-хлорметилфенил)бутил]силан для обработки капилляров как с травленными, так и с необработанными поверхностями. В работе Бартля и Новотного [33] изучалось влияние некоторых способов силанизации на смачиваемость стекла разными жидкими фазами. Некоторые интересные результаты зависимости эффективности колонки от предварительной обработки ее поверхности представили Рейсвик и Тесажики [34]. Однако необходимо учитывать, что во всех этих работах сравнения проводились относительно необработанной гидратированной стеклянной поверхности; способы обработки, позволяющие удалить гидратирующий слой, могут улучшить работу колонки и повысить ее стабильность (см. ниже).

Кронин [35] описал еще одну процедуру, которую можно отнести к способам предварительной обработки поверхности колонки. Колонку ополаскивают разбавленным раствором карбовакса 20 М в дихлорметане, высушивают, запаивают в атмосфере азота и в течение 16 ч выдерживают при температуре 280°C. Затем ее промывают дихлорметаном и динамическим способом наносят на ее поверхность слой неподвижной жидкой фазы (см. ниже). Гордон и сотр. [36] вначале покрывали внутреннюю поверхность капилляра полимером, а затем осаждали неподвижную фазу на промежуточный слой полимера. Некоторые исследователи отмечали, что хорошей смачиваемостью обладает внутренняя поверхность только что вытянутых капилляров, промытая щелочным раствором перманганата [37, 38].

Предлагались и другие способы предварительной обработки, такие, как нанесение на поверхность слоя диоксида кремния [39] или образование «ворсистой» поверхности [33, 40], но колонки с такими поверхностями относятся скорее к типу ОЗПС, чем к типу ОНПС. Следует ожидать, что такие колонки будут обладать большей емкостью, т. е. содержать большее количество неподвижной жидкой фазы на единицу длины, и следовательно, характеризоваться меньшими значениями β , однако при этом следует ожидать и пропорционального уменьшения их эффективности (см. гл. 1). Большинство исследователей вытягивают толстостенные трубки и получают толстостенные капилляры, например с внутренним диаметром 0,25 мм при наружном диаметре 0,75—1,0 мм. Стандартные стеклянные трубки дают капилляры с более тонкими стенками, например с внутренним диаметром 0,25 мм при наружном 0,5 мм. Те, кто предпочитает толстостенные капилляры, отмечают их повышенную жесткость и прочность; те же, кто предпочитает тонкостенные капилляры, утверждают, что такие капилляры более гибки, благодаря чему с ними легче работать, и в частности легче распрямлять концы колонки, с тем чтобы как можно глубже заводить их во входные отверстия детектора (см. ниже). Большая гибкость капилляров из стандартных трубок, по-видимому, представляется удобной тем, кто для нанесения неподвижной жидкой фазы пользуется модификацией способа Голя с нагреванием открытого конца колонки (разд. 3.3); однако этот способ одинаково эффективен как для тонкостенных, так и для толстостенных капилляров. Капиллярные колонки изготавливали и из боросиликатного, и из натрий-кальциевого стекла. Утверждают, что натрий-кальциевое стекло обладает двумя преимуществами: оно легче травится (большинство колонок с травленной поверхностью изготавливают из натрий-кальциевого стекла) и обладает большей гибкостью, благодаря чему колонки из этого стекла реже растрескиваются под действием воздушных потоков в печи и т. д. Однако поверхность такого стекла содержит ионы кальция

и гидроксид-ионы, вследствие чего она обладает довольно высокой реакционной способностью; эту активность можно понизить при помощи определенных жидких фаз или добавок, уменьшающих расширение задних фронтов хроматографических зон. Менее активна поверхность стекла пирекс, и колонки из этого стекла могут оказаться более приемлемыми для проведения некоторых трудных разделений. То, какой из способов дезактивации поверхности (если таковой вообще имеется) наиболее эффективен, зависит от типа стекла, из которого изготовлена колонка, от природы неподвижной жидкой фазы и от природы анализируемых соединений. Некоторые из относящихся к этой проблеме вопросов рассмотрены в разд. 5.4, посвященном оценке качества колонок, но здесь уместно отметить, что ни один из распространенных в настоящее время способов не является универсальным. Так, например, способы обработки, позволяющие уменьшить расширение задних фронтов хроматографических зон спиртов в колонках с неполярными жидкими фазами, дают поверхности, на которых очень нестабильны другие соединения, такие, как никотин. Наилучшими в смысле механической прочности и химической инертности вполне могут оказаться колонки из чистой двуокиси кремния, которые, возможно, будут производить в будущем.

После краткого очерка свойств стеклянных поверхностей, от которых зависит качество наносимого на них слоя неподвижной жидкой фазы, обратимся к самому процессу нанесения жидкой фазы. Конечно, можно почувствовать удовлетворение, когда после многих неудач и разочарований из устройства для вытягивания трубок начинают, наконец, выходить капилляры приемлемой длины; однако основные трудности еще впереди. При достаточных средствах и терпении любой способен рано или поздно вытянуть стеклянный капилляр. Но успех или неудача в изготовлении открытых колонок зависит от умения нанести на их внутреннюю поверхность высокостабильный, равномерно тонкий и прочно сцепленный с поверхностью слой неподвижной жидкой фазы.

Литература

1. *Ettre L. S.*, Open Tubular Columns: an Introduction, Publ. GCD-35, Perkin-Elmer Corp., Norwalk, Connecticut (1973).
2. *Cronin D. A.*, J. Chromatogr., 48, 406 (1970).
3. *Schieke J. D., Comins N. R., Pretorius V.*, J. Chromatogr. 112, 97 (1975).
4. *Nikelly J. G.*, Anal. Chem., 45, 2280 (1973).
5. *Desty D. H., Haresnip J. N., Whyman B. H. F.*, Anal. Chem., 32, 302 (1960).
6. *Halász I., Horvath C.*, Anal. Chem., 35, 499 (1963).
7. *Grob K.*, Helv. Chim. Acta, 48, 1362 (1965).
8. *Metcalf L. D., Martin R. J.*, Anal. Chem., 39, 1204 (1967).
9. *Malec E. J.*, J. Chromatogr. Sci., 9, 318 (1971).
10. *Mon T. R., Forrey R. R., Teranishi R.*, J. Gas Chromatogr., 5, 497 (1967).
11. *Jennings W. G.*, Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm., 1, 9 (1971).
12. *Wenzel R. N.*, Ind. Eng. Chem., 28, 988 (1936).
13. *Alexander G., Rutten G. A. F. M.*, Chromatographia, 6, 231 (1973).
14. *Alexander G., Garzó G., Pályi G.*, J. Chromatogr., 91, 25 (1974).
15. *Alexander G., Rutten G. A. F. M.*, J. Chromatogr., 99, 81 (1974).
16. *Badings H. T., van der Pol J. J. G., Wassink J. G.*, Chromatographia, 8, 440 (1975).
17. *Franken J. J., Rutten G. A. F. M., Rijks J. A.*, J. Chromatogr., 126, 117 (1976).
18. *Kripčik J., Kristin M., Valichovicová M., Janiga S.*, J. Chromatogr., 126, 147 (1976).
19. *Onuska F. I., Coma M. E.*, J. Chromatogr., 126, 133 (1976).
20. *Olsen D. A., Osteraas A. J.*, J. Phys. Chem., 68, 2730 (1964).
21. *Fox H. W., Hare E. F., Zisman W. A.*, J. Phys. Chem., 59, 1097 (1955).
22. *Hare E. F., Zisman W. A.*, J. Phys. Chem., 59, 335 (1955).
23. *Watanabe C., Tomita H.*, J. Chromatogr. Sci., 13, 123 (1975).
24. *Jennings W. G.*, Chromatographia, 8, 690 (1975).
25. *Simon J., Szepeszy L.*, J. Chromatogr., 119, 495 (1976).
26. *Diez J. C., Dabrio M. V., Oteo J. L.*, J. Chromatogr. Sci., 12, 641 (1974).
27. *Nota G., Goretti G. C., Armenante M., Marino G.*, J. Chromatogr. 95, 229 (1974).
28. *Schulte E.*, Chromatographia, 9, 315 (1976).
29. *Grob K., Grob G.*, J. Chromatogr., 125, 471 (1976).
30. *Novotny M.*, J. Chromatogr. Sci., 8, 390 (1970).
31. *Novotny M., Bartle K. D.*, Chromatographia, 7, 122 (1974).
32. *Novotny M., Grohmann K.*, J. Chromatogr., 84, 167 (1973).
33. *Bartle K. D., Novotny M.*, J. Chromatogr., 94, 35 (1974).
34. *Van Rijswijk M. H. J., Tesarik K.*, Chromatographia, 7, 135 (1974).

35. *Cronin D. A.*, J. Chromatogr., 97, 263 (1974).
36. *Gordon A. L., Taylor P. J., Harris F. M.*, J. Chromatogr. Sci., 14, 428 (1976).
37. *Jennings W. G., Wohleb R.*, Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm., 3, 33 (1974).
38. *Jennings W. G., Yabumoto K., Wohleb R. H.*, J. Chromatogr. Sci., 12, 344 (1974).
39. *Blumer M.*, Anal. Chem., 45, 980 (1973).
40. *Schieke J. D., Comins N. R., Pretorius V.*, Chromatographia, 8, 354 (1975).

Глава 3

НАНЕСЕНИЕ СЛОЯ
НЕПОДВИЖНОЙ ЖИДКОЙ ФАЗЫ
НА ВНУТРЕННЮЮ ПОВЕРХНОСТЬ
КОЛОНКИ

3.1. ОБЩИЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Задача — покрыть внутреннюю поверхность колонки равномерным слоем жидкой фазы толщиной 0,1—1,5 мкм. Для колонок с очень высокой эффективностью необходимы еще более тонкие пленки неподвижной жидкой фазы, но при этом соответственно уменьшается их емкость (см. разд. 1.2).

Способы нанесения неподвижной жидкой фазы можно разделить на два общих класса; способы одного класса называют *динамическими*, способы другого — *статическими*.

3.2. ДИНАМИЧЕСКИЕ
СПОСОБЫ НАНЕСЕНИЯ
НЕПОДВИЖНОЙ ЖИДКОЙ ФАЗЫ

Динамический способ впервые описали Дейкстра и Де-Гой [1]. В той форме, в которой им пользуются большинство из его сторонников, он заключается в том, что раствор, содержащий около 10% неподвижной жидкой фазы в подходящем низкокипящем растворителе, прокачивают сквозь колонку при строго определенных условиях. Иногда через колонку пропускают этот раствор в количестве, равном нескольким объемам колонки, но чаще всего этим раствором заполняют от двух до 15 начальных витков спиральной колонки и проталкивают его азотом со скоростью от 1 до 2 см·с⁻¹. Когда эта «пробка» раствора начинает выходить из колонки, уменьшается обратное дав-

ление и скорость перемещения раствора может возрасти. Для предотвращения этого к концу колонки иногда подсоединяют вспомогательную («холостую») колонку, которая служит ограничителем скорости. После выхода раствора из колонки продолжают продувать ее азотом; при этом можно постепенно повышать температуру колонки для испарения остатков растворителя. Некоторые исследователи проводят один такой цикл, другие два или три. Как отмечал Бломберг [2], на равномерность получаемой при этом пленки оказывает влияние скорость потока газа на стадии испарения растворителя.

Для нанесения пленки жидкой фазы в «дегидрированные капилляры» Симон и Сепеши [3] заполняли их 10—30%-ным раствором неподвижной жидкой фазы, затем запаивали и оставляли на 24—100 ч. Они полагали, что этого времени достаточно, чтобы более тяжелые молекулы неподвижной жидкой фазы продиффундировали к стенкам капилляра и адсорбировались на их активных центрах. По истечении этого времени раствор из колонки быстро удаляли (со скоростью 0,5—1 м·с⁻¹), а затем сушили и кондиционировали ее.

Было предложено несколько формул для вычисления окончательной толщины пленки неподвижной жидкой фазы, полученной при динамическом способе нанесения. Формулу, предложенную Новотным и Бартлем [4], можно записать в виде

$$d_f = \left(\frac{r_0 c}{200} \right) \left(\frac{u \eta}{\gamma} \right)^{1/2}, \quad (3.1)$$

где r_0 — радиус капилляра; c — концентрация неподвижной жидкой фазы в рабочем растворе (об. %); u — скорость прохождения раствора через колонку в процессе нанесения; η , γ — вязкость и коэффициент поверхностного натяжения рабочего раствора неподвижной фазы соответственно. Если приготовить слишком вязкий раствор неподвижной фазы, то получится слишком толстая пленка и эффективность колонки окажется низкой. При менее вязких растворах получают более тонкие пленки жидкой фазы, но

недостаточно вязкий раствор заметно стекает к нижним поверхностям колонки в процессе нанесения и испарения растворителя, что приводит к образованию утолщений и сгустков в пленке неподвижной фазы, резко снижающих эффективность колонки.

Динамические способы успешно применяли для нанесения нескольких жидких фаз (включая полиметилсилоксановую фазу SE 30) на необработанные поверхности стеклянных капилляров, но для нанесения более полярных жидких фаз обычно требуется

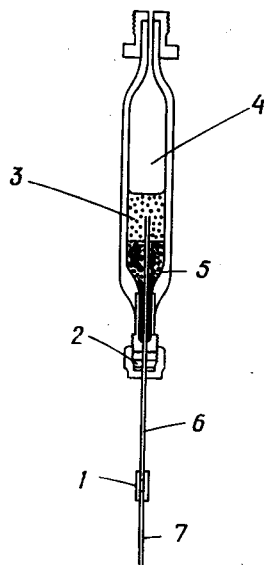


РИС. 3.1. Методика Шомбурга [5].

Горизонтально расположенную спиральную колонку подсоединяют к трубке из нержавеющей стали отрезком размягченной тефлоновой трубки. Верхнюю часть стального капилляра вводят в концентрированный раствор неподвижной жидкой фазы и газообразным азотом увеличивают давление в резервуаре. После того как в капилляре окажется столбик раствора высотой 10–30 см, конец стальной трубки опускают в ртуть с тем, чтобы вслед за раствором ввести в колонку столбик ртути высотой 3–10 см, и затем поднимают конец капилляра в заполненное азотом пространство над раствором неподвижной жидкой фазы. Для поддержания постоянной скорости прохождение раствора к концу колонки присоединяют буферную колонку.

1 — тефлоновая трубка; 2 — скользящее соединение; 3 — раствор неподвижной жидкой фазы; 4 — азот, 1–20 атм; 5 — ртуть; 6 — капилляр из нержавеющей стали; 7 — стеклянный капилляр.

предварительная обработка поверхности. У большинства исследователей, применявших первоначальные варианты динамического способа, процент успеха был относительно невелик: возможно, это было связано с упомянутым выше стеканием раствора по стенкам капилляра. Чтобы избежать этого, Шомбург и Хасманн [5] предложили пользоваться более концентрированными, а следовательно, и более вязкими растворами неподвижной жидкой фазы, пленки которых на поверхности капилляра более устойчивы в процессе испарения растворителя. Для того чтобы из таких более вязких растворов получать тонкие пленки, авторы предложили вслед за «пробкой» концентрированного раствора жидкой фазы пропускать через колонку столбик ртути длиной в несколько сантиметров, полагая, что ртуть, обладающая высоким поверхностным натяжением, смочит большую часть раствора неподвижной фазы с поверхности и удалит ее из колонки. Для практической реализации этого способа они использовали сосуд, показанный на рис. 3.1. Пустую спиральную колонку с травленной внутренней поверхностью располагают так, чтобы ее витки были в горизонтальном положении, и при помощи предварительно размягченной нагреванием тефлоновой трубочки 1 соединяют ее с выходящей из сосуда трубкой из нержавеющей стали 6. Верхний конец стальной трубки можно поднимать и опускать с тем, чтобы располагать его по необходимости в жидкой фазе, в ртути или в азоте над ртутью и тем самым поочередно вводить их в колонку. Вначале конец трубки оставляют в жидкой фазе и под давлением азота вводят в колонку столбик концентрированного раствора неподвижной жидкой фазы высотой ~10 см. Затем верхний конец трубки опускают в ртуть и сразу же вслед за раствором вводят в колонку столбик ртути высотой около 1–2 см. После этого, подняв конец трубки над ртутью, начинают продувать колонку азотом. После того как раствор и ртуть выйдут из колонки, повышают ее температуру и продолжают продувать азотом для удаления остатков растворителя.

3.3. СТАТИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ

Статический способ, применяемый в настоящее время большинством исследователей, в основном разработали Верзель и сотр. [6, 7]. По этому способу колонку заполняют разбавленным раствором ($3\text{--}10\text{ мг}\cdot\text{см}^{-3}$) неподвижной жидкой фазы в подходящем низкокипящем растворителе и тщательно запаивают один из ее концов; крайне важно, чтобы колонка была целиком заполнена раствором и чтобы в растворе не было пузырьков воздуха или паров растворителя, особенно у запаянного конца. Заполненную раствором колонку помещают в вакуум, растворитель испаряют в стационарных условиях, и на стенках колонки остается тонкая пленка неподвижной жидкой фазы. Конечно, испарение растворителя из длинной тонкой трубки — длительная процедура; как правило, этот способ применяют для широких (с внутренним диаметром $0,5\text{--}0,8\text{ мм}$) колонок длиной не более $20\text{--}30\text{ м}$. Важно, чтобы в растворителе не было частичек пыли или растворенного газа, иначе в процессе испарения он будет кипеть толчками. Проще всего это достигнуть, если профильтровать вдвое разбавленный рабочий раствор через микропористый фильтр (*предостережение*: некоторые микропористые фильтры растворяются в дихлорметане), а затем с целью дегазации выпарить его кипячением до половины первоначального объема. Закрытый сосуд с обработанным раствором быстро охлаждают и всасывают раствор в колонку с тем, чтобы предотвратить растворение в нем газа. Один конец заполненной раствором колонки опускают и выжидают, пока под действием силы тяжести на нем не начнет образовываться капля, после чего этот конец сразу закрывают. Надежно это можно сделать следующим образом. Короткую ($4\text{--}2\text{ см}$) тонкостенную стеклянную или пластмассовую трубку заполняют самовулканизирующимся жидким силиконовым каучуком, который имеется в продаже и применяется для изготовления прокладок для автомашин, уплотнителей для окон и водопроводных труб. Эту трубку надевают на за-

крываемый конец колонки и выжидают вулканизации каучука. При этом получается гораздо лучшая герметизация, чем при большинстве других способов [8]. В процессе испарения растворителя решающее значение имеет точное выдерживание необходимой температуры; наиболее опытные исследователи рекомендуют пользоваться двойной водяной баней: заполненную колонку погружают в водяную баню, находящуюся на другой водяной бане, температуру которой контролируют с большой точностью. Некоторые авторитетные исследователи отмечают, что наилучшие результаты статический способ дает при нанесении твердых или полутвердых неподвижных жидких фаз, таких, как силиконовые каучуки, на травленные поверхности стеклянных капилляров. Исследователи, сравнивавшие динамический и статический способы, обычно склоняются в пользу последнего [9, 10], хотя Новотны [11] считает, что эти способы одинаково эффективны. Харрисон [12] утверждал, что более равномерную пленку неподвижной жидкой фазы можно получить, если заполнять колонку раствором определенного количества жидкой фазы в бензоле, замораживать ее и затем испарять замороженный растворитель в вакууме из обоих концов колонки. Этот способ менее эффективен для вязких неподвижных жидких фаз; как сообщили авторы этого способа, при его использовании не удалось удовлетворительно нанести пленку жидкой фазы карбовакс 20М.

Голей в своей работе [13] описал следующий способ нанесения пленки неподвижной жидкой фазы: колонку заполняют разбавленным раствором неподвижной жидкой фазы в низкокипящем растворителе, закрывают один из ее концов и открытым концом вперед протягивают через нагревательную печь. В том варианте этого способа, которым пользовался Голей, колонку можно было свернуть в спираль лишь после получения в ней пленки неподвижной фазы, а это ограничивало его практическую ценность. Илькова и Мистрюков [14] модифицировали этот способ и заполняли разбавленным раствором неподвижной жидкой фазы уже свернутую в спираль

колонку. Для этого они вводили колонку открытым концом в нагретую печь при постоянном вращении колонки вокруг продольной оси, т. е. как бы ввинчивая ее в печь, а растворитель при этом испарялся из ее открытого конца. Когда почти вся колонка, за исключением нескольких витков, проходила через печь, закрытый конец колонки отламывали и удаляли из нее остатки паров растворителя вакуумным насосом или потоком азота.

Преимущество такой модификации способа Голея в том, что отпадает необходимость наблюдений за полным отсутствием воздуха у закрытого конца колонки, благодаря чему этот конец можно просто запаять. Недостаток его в том, что большой процент колонок оказывается (по крайней мере у нас в лаборатории) не самого высокого качества; при осмотре менее удовлетворительных колонок выявилось, что на их внутренней поверхности образуются почти регулярно чередующиеся кольцевые утолщения слоя неподвижной жидкой фазы (рис. 3.2). Если в сушильной печи сделать стеклянную стенку, то причину возникновения этого дефекта легко можно будет наблюдать: в редких случаях растворитель испаряется постепенно. По мере поступления колонки в нагретую зону печи через каждые несколько сантиметров длины колонки происходит внезапное быстрое испарение растворителя. Разумеется, желательнее более плавное и непрерывное испарение. Мысль о том, что этого можно добиться при более узкой и концентрированной зоне нагрева в печи, привела к разработке еще одной модификации этого способа.

Модификация описанного выше способа Ильковой и Мистрюкова заключается в том, что на входе нагревательной печи была установлена кольцевая трубка из нержавеющей стали, подогреваемая электрическим током (рис. 3.3). Эта трубка создает узкую концентрированную зону нагрева, и в процессе нанесения неподвижной жидкой фазы колонка находится в совершенно иных условиях. Когда колонка, заполненная раствором неподвижной фазы, проходит зону нагрева, создаваемую кольцевой трубкой, растворитель

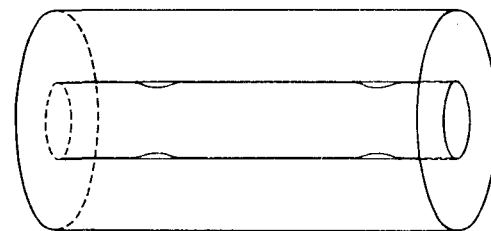


РИС. 3.2. Кольцевые утолщения в пленке неподвижной жидкой фазы, возникающие примерно на равных расстояниях друг от друга, характерны для колонок, высушенных модифицированным способом Голея [13].

Этот дефект связан с вскипанием растворителя в процессе его испарения; избавиться от такого дефекта можно, используя нагреватель с узкой зоной нагрева.

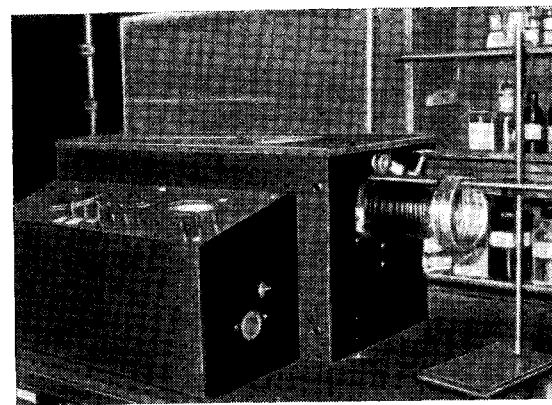


РИС. 3.3. Модификация способа Голея с нагревателем, установленным перед входом в печь-термостат [15, 16].

Концентрированная зона нагрева, через которую проходит колонка перед входом в печь, создает совершенно иные условия нанесения пленки неподвижной жидкой фазы на внутренние стенки капиллярной колонки.

тель мгновенно переходит в фазу перегретого пара, содержащего аэрозоль неподвижной жидкой фазы. Непрерывное испарение растворителя по мере продвижения колонки в печь приводит к значительному повышению давления внутри колонки; если оставить

незаполненными несколько витков колонки у ее закрытого конца, то по степени уменьшения этого незаполненного раствором пространства можно судить о том, что в колонке развивается давление до 20—30 атм. Внутренние стенки колонки подвергаются в этом процессе жесткой очистке и непрерывно орошаются аэрозолем жидкой фазы в парах растворителя, нагретых до высокой температуры при высоком давлении. Этим, возможно, обеспечивается лучший контакт жидкой фазы со стенками колонки, что и повышает стабильность колонок, изготавливаемых таким способом [15]. Как правило, при этом использовали предварительно необработанные колонки [16].

3.4. ОТКРЫТЫЕ КОЛОНКИ С ПОРИСТЫМИ СТЕНКАМИ И КОЛОНКИ СО СТЕНКАМИ, ПОКРЫТЫМИ ТВЕРДЫМ НОСИТЕЛЕМ

Несмотря на то что в использовании этих терминов наблюдается большая путаница, колонки этих типов все же обычно различают. Пористый слой на стенках колонки типа ОЗПС можно получить путем осаждения на них относительно тяжелого кристаллического вещества или порошка плавленного стекла; в колонках типа ОНПС стенки также покрыты пористым слоем, но этот слой образован твердым материалом носителя, пористым самим по себе, таким, как диатомитовая земля. Все колонки типа ОНПС относятся к типу ОЗПС, но не все колонки типа ОЗПС относятся к типу ОНПС.

За некоторыми исключениями, колонки типа ОЗПС часто изготавливают в две стадии: сначала наносят на стенки колонки пористый слой, а затем на этот слой наносят неподвижную жидкую фазу. Колонки типа ОНПС изготавливают, как правило, в одну стадию: рабочий раствор неподвижной жидкой фазы содержит обычно взвесь порошка твердого носителя. Не всегда удается провести грань, отделяющую колонки типа ОНС с предварительно обрабо-

танными стенками от колонок типов ОЗПС и ОНПС. Микрористаллические отложения на стенках часто применяют в колонках, которые, несмотря на это, относят к типу ОНС [17, 18], но по мере увеличения размера кристаллов на стенках некоторые исследователи начинают относить их к типу ОЗПС или ОНПС [19]. В некоторых колонках типа ОЗПС или ОНПС частицы, образующие пористый слой на стенках, бывают даже меньшего размера, чем кристаллы, осажденные на стенках предварительно обработанных колонок типа ОНС.

В литературе описано большое число способов изготовления колонок этих типов, но здесь будут рассмотрены лишь те, которые пригодны для приготовления стеклянных колонок. Первой в этой области была работа Халаша и Хорвата [20], в которой описано использование растворов неподвижной жидкой фазы, содержащих высокодисперсный оксид железа (III) для стабилизации триэтиленгликоля в качестве неподвижной жидкой фазы, и тонкоизмельченный твердый носитель для стабилизации сквалана в предварительно посеребренных медных колонках. Авторы подчеркивали, что растворитель должен быть низкокипящим (чтобы в дальнейшем его легко было бы испарить) и иметь высокую плотность, чтобы способствовать диспергированию твердого носителя. Никелли [21] распылял хромосорб W и отбирал наиболее мелкие частицы путем суспендирования пыли в обезвоженном ацетоне. Отобранные частицы он высушивал и суспендировал 1,5 г в 2—10%-ном растворе неподвижной жидкой фазы. Затем он прокачивал полученный раствор из резервуара сквозь колонку из нержавеющей стали с внутренним диаметром 0,5 мм, которую затем кондиционировали обычным способом. Блюмер [22] применял в качестве твердого носителя силанокс 101 (Silanox 101) — распыленный диоксид кремния. К 10 мл дихлорметана, содержащего 0,2—0,5 г неподвижной жидкой фазы, он добавлял 0,4—0,65 г силанокса 101 и для образования взвеси обрабатывал смесь ультразвуком. Полученную взвесь использовал для нанесения пленки неподвижной

фазы в колонке способом, аналогичным тому, который описал Никелли [21]. Кайзер [23] обсуждал общие методики применения этих способов для незаполненных стеклянных колонок. Он указывал, что в качестве носителей применяют самые разнообразные материалы — от природных или обработанных биологических материалов, таких, как порошок рисового или кукурузного крахмала, споры цветов или цветочная пыльца, до неорганических порошков оксида алюминия, диоксида кремния и диатомитовых земель. Эти порошки имеют большую площадь поверхности, и может потребоваться их дезактивация, например путем обработки какой-либо полярной жидкой фазой. Как сообщил Кайзер, при помощи этих мелких частиц на стеклянной поверхности можно стабилизировать даже такие полярные жидкие фазы, как диэтиленгликольсукцинат (ДЭГС). Для стабилизации взвеси порошков целита и аэросила в растворе полипропиленгликоля 1500 в четыреххлористом углеводе он применял резервуар с магнитной мешалкой, из которого этот раствор прокачивался со скоростью $2 \text{ см} \cdot \text{с}^{-1}$ через горизонтально закрепленную стеклянную колонку размером $0,4\text{—}0,5 \text{ мм} \times 30 \text{ м}$.

Сообщалось [22, 24], что колонки с повышенной термической стабильностью получают способом, согласно которому внутренние стенки колонки сначала покрывают слоем силанокса 101 и затем статическим способом наносят на него неподвижную жидкую фазу; в других работах отмечалось, что при таком способе возрастает емкость колонки, но за счет падения ее эффективности.

Один новый способ приготовления колонок типа ОЗНС, впервые описанный Грантом [25], был модифицирован Крониным [26], причем, как сообщалось, эта модификация позволяет получать колонки высокой надежности. Согласно способу Кронина, кусочки боросиликатного стекла с температурой размягчения примерно на 60°C ниже температуры размягчения трубки, предназначенной для изготовления колонки, распыляют и пропускают через сито 200 меш. Один конец трубки из более тугоплавкого боросили-

катного стекла с наружным диаметром 9 мм и внутренним — 3 мм закрывают и внутри трубки располагают тщательно очищенный кусочек вольфрамовой проволоки длиной 2 м и диаметром 0,34 мм. Стеклянный порошок тщательно смешивают в отношении 3:7 по весу с целитом 545 зернением 120—150 меш и засыпают смесь в трубку вокруг вольфрамовой проволоки так, чтобы получить плотность порошка из расчета 3 г порошка на 1 м длины трубки. Заполненную трубку помещают в устройство для вытягивания капилляров, пропустив ее закрытый конец через печь этого устройства. Выступающий из открытого конца трубки конец вольфрамовой проволоки закрепляют так, чтобы при полностью вытянутой проволоке другой ее конец, находящийся в трубке, на 15—25 мм выступал из выходного отверстия печи; затем этот конец немного вытягивают из трубки так, чтобы он оказался прямо перед входным отверстием печи, и начинают процесс вытягивания капилляра. При этом проволока втягивается в печь вместе с трубкой, насколько это позволяет ее закрепленный конец. В процессе вытягивания капилляр с направленным слоем стеклянного порошка и диатомитовой земли стягивается с проволоки, проходит через изгибающую трубку и получается спиральная колонка. Изготовленную колонку заполняют раствором неподвижной жидкой фазы, поднимают в ней давление до 10—15 атм, выводят из нее раствор, высушивают и кондиционируют.

3.5. ХИМИЧЕСКИ СВЯЗАННЫЕ ФАЗЫ

Мадани и сотр. [27] применяли совершенно иной метод. Сначала они травили внутренние стенки стеклянного капилляра из боросиликатного стекла способом Александера и Руттена [28]. В охлажденную колбу, содержащую 40 мл дихлорметилсилана (ДХМС), добавляли по каплям с одновременным встряхиванием 60 мл 12%-ного раствора гидроксида аммония. Через несколько часов после этого из колбы

извлекали образовавшийся полимер, тщательно промывали его дистиллированной водой и сушили центрифугированием. Полученную почти прозрачную маслянистую жидкость растворяли в дихлорметане (20 об. %) и примерно на одну четверть заполняли этим раствором колонку. Избыток раствора удаляли из нее азотом; поток азота пропускали еще в течение нескольких часов для высушивания пленки неподвижной фазы. Затем колонку подсоединяли к колбе с твердым гидроксидом натрия, в которую предварительно вводили 25%-ный раствор гидроксида аммония. Под действием избыточного давления газообразный аммиак проходил сквозь колонку. После этого закрывали оба конца колонки и в течение 24 ч выдерживали при температуре 320°C, продували для очистки и кондиционировали. Есть сообщения, что изготовленные таким способом колонки обеспечивали разделения нескольких стандартных смесей.

3.6. НАСАДОЧНЫЕ КАПИЛЛЯРНЫЕ И МИКРОНАСАДОЧНЫЕ КОЛОНКИ *

Обычно насадочными капиллярными колонками называют колонки, изготовленные вытягиванием стеклянных трубок, предварительно неплотно заполненных узкой фракцией твердого зернистого материала-носителя [29], а микронасадочными называют колонки аналогичных размеров, заполненные насадкой с нанесенной на нее неподвижной жидкой фазой уже после вытягивания капилляра ** [30].

Для колонок первого типа в качестве носителей можно применять лишь материалы, обладающие высокой механической прочностью и высокой термической стабильностью; для колонок второго типа этих

* Более подробно колонки этого типа рассмотрены в дополнении. — *Прим. ред.*

** Указанная терминология для капиллярных колонок, заполненных сорбентом, не удачна, так как по смыслу используемых терминов различие между указанными колонками состоит

ограничений нет. По емкости и эффективности колонки обоих типов занимают промежуточное положение между насадочными колонками и колонками типа ОНС. Как правило, внутренний диаметр этих колонок менее 1,0 мм. Считают, что они имеют несколько преимуществ: относительно малый перепад давлений, относительно высокая эффективность разделения, непосредственный ввод проб в них (см. ниже) не представляет труда. Для микронасадочных колонок подходят любой носитель и любая неподвижная жидкая фаза. Вследствие повышенной емкости эти колонки вполне годны для работы в комбинации с масс-спектрометрами или для других целей, когда необходимо выделять разделенные фракции или подвергнуть элюент чувствительному анализу.

Преимущества этих колонок обсуждал Кайзер [31], а Брунер и сотр. [32] описали способ заполнения их графитированной сажей. В более поздней работе [33] Брунер и сотр. описали метод изготовления микронасадочных колонок со значениями n до 30 000 и величины h до 0,45 мм и продемонстрировали разделение на таких колонках разнообразных продуктов. Березкин и сотр. [34] изготовили короткие микронасадочные колонки и на них изучали влияние диаметра колонки и скорости потока газа-носителя (гелия и азота) на ее рабочие характеристики.

Литература

1. Dijkstra G., DeGoey J., in «Gas Chromatography 1958» (D. H. Desty, ed), pp. 56—58, Butterworths, London, 1958.
2. Blomberg L., Chromatographia 8, 324 (1975).
3. Simon J., Szepeszy L., J. Chromatogr., 119, 405 (1974).

только в размере зерен насадки (насадочные и микронасадочные колонки), а не в характеристике природы используемой насадки (твердая фаза или жидкая фаза на твердом носителе). Поэтому целесообразно капиллярные колонки, заполненные любым сорбентом, называть или насадочными капиллярными колонками, или капиллярными колонками с насадкой. [См., например, Березкин В. Г., Школина Л. А., Липавский В. Н., Сердан А. А., Усп. химии, 47, 1875 (1978).] — *Прим. ред.*

4. Novotny M., Bartle K. D., J. Chromatogr., 93, 405 (1974).
5. Schomburg G., Husmann H., Chromatographia, 8, 517 (1975).
6. Bouche J., Verzele M., J. Gas Chromatogr., 6, 501 (1968).
7. Verzele M., Verstappe M., Sandra P., van Luchene E., Vuye A., J. Chromatogr. Sci., 10, 668 (1972).
8. Roeraade J., Personal communication.
9. Roeraade J., Chromatographie, 8, 511 (1975).
10. Sandra P., Verzele M., van Luchens E., Chromatographia, 8, 499 (1975).
11. Novotny M., J. Chromatogr. Sci., 8, 390 (1970).
12. Harrison I. T., Anal. Chem., 47, 1211 (1975).
13. Golay M. J. E., in «Gas Chromatography 1958» (D. H. Desty, ed.), pp. 36—55, Butterworths, London, 1958.
14. Ilkova E. L., Mistryukov E. A., J. Chromatogr. Sci., 9, 569 (1971).
15. Jennings W. G., Wohleb R., Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm., 3, 33 (1974).
16. Jennings W. G., Yabamoto K., Wohleb R. H., J. Chromatogr. Sci., 12, 344 (1974).
17. Schulte E., Chromatographia, 9, 315 (1976).
18. Nota G., Goretti G. C., Armenante M., Marino G., J. Chromatogr., 95, 229 (1974).
19. Watanabe C., Tomita H. J., J. Chromatogr. Sci., 13, 123 (1975).
20. Halász I., Horváth C., Anal. Chem., 35, 499 (1963).
21. Nikelly J. G., Anal. Chem., 44, 633 (1972).
22. Blumer M., Anal. Chem., 45, 980 (1973).
23. Kaiser R., Chromatographia, 1, 1 (1968).
24. Van Hout P., Szafranek J., Pffaffenberger C. D., Horning E. C., J. Chromatogr., 99, 103 (1974).
25. Grant D. W., J. Gas Chromatogr., 6, 18 (1969).
26. Cronin D. A., J. Chromatogr., 48, 406 (1970).
27. Madani C., Chambaz E. M., Rigaud M., Durand J., Chebroux P., J. Chromatogr., 126, 161 (1976).
28. Alexander G., Rutten G. A. F. M., Chromatographia, 6, 231 (1973).
29. Halász I., Heine E., Anal. Chem., 37, 495 (1965).
30. Cramers C. A., Rijka J. A., Bocek P., J. Chromatogr., 65, 29 (1972).
31. Kaiser R., J. Chromatogr., 112, 455 (1975).
32. Bruner F., Ciccioli P., Bertoni G., J. Chromatogr., 90, 239 (1974).
33. Bruner F., Ciccioli P., Bertoni C., Liberti A., J. Chromatogr. Sci., 12, 758 (1974).
34. Berezkin V. G., Shkolina L. A., Svyatoshenko A. T., J. Chromatogr., 99, 111 (1974).

Глава 4

СИСТЕМЫ ДЛЯ ВВОДА ПРОБ В КОЛОНКУ

4.1. ОБЩИЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Никакие достоинства самой хроматографической колонки не могут компенсировать конструктивные дефекты хроматографической системы. Небольшие дефекты системы, которые можно не заметить при работе с большими скоростями потока газа-носителя, типичными для насадочных колонок, могут стать неприемлемыми при установке в систему колонки капиллярных размеров. Особое внимание следует обращать на те участки системы, которые имеют чрезмерно большие объемы, а также на мертвые объемы, которые чаще всего возникают в местах соединения колонки с входным устройством хроматографа и с детектором.

Колонки, для которых допустимы скорости потока газа-носителя порядка 5—8 мл·мин⁻¹, включая микронасадочные колонки, большинство колонок типов ОЗНС, ОНПС, а также типа ОНС большого диаметра могут работать с обычными газохроматографическими системами, хотя предпочтительней такие модели, которые имеют стеклянные, а следовательно, менее реакционноспособные поверхности. Однако колонки малого внутреннего диаметра имеют наибольшую эффективность при относительно малых скоростях потока газа-носителя. Оптимальная средняя скорость потока газа-носителя для колонки с внутренним диаметром 0,25 мм может быть равна 6—12 см·с⁻¹, что для азота эквивалентно объемной скорости 0,18—0,35 мл·мин⁻¹. Если объем камеры для впрыскивания или испарения проб минимален и равен, скажем, 1 мл и если для выдувания из камеры всей пробы доста-

точно равного ее объему газа-носителя (что представляется весьма сомнительным предположением), то для перенесения всего содержимого камеры в колонку потребуется 3—5 мин. Зона пробы в начале колонки будет иметь ширину 3—5 мин, и каждое вещество, вступающее в процесс хроматографического разделения сразу после ввода в колонку, даст хроматографический пик шириной самое меньшее 3—5 мин. Встретившись с подобным явлением, не один исследователь откажется от использования колонок типа НС и вернется к работе с насадочными колонками. Есть два способа преодоления этого затруднения.

4.2. ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЕ КОНЦЕНТРИРОВАНИЕ ПРОБЫ

Если температуру колонки понизить настолько, что константы распределения всех компонентов разделяемой смеси станут очень большими, то концентрации этих компонентов в газе-носителе будут пренебрежимо малы. Эти условия, при которых вводимые в колонку вещества концентрируются в неподвижной жидкой фазе в самом начале колонки и не вступают в процесс хроматографического разделения, нужно поддерживать до тех пор, пока вся анализируемая проба не поступит в колонку из испарительной камеры. После этого температуру колонки можно поднять и начать хроматографическое разделение узкой зоны пробы в начале колонки. Подробнее этот способ рассмотрен в гл. 11.

По-видимому, уместно заметить, что подобный процесс ввода пробы часто происходит помимо воли экспериментатора и бывает причиной появления *ложных хроматографических пиков*, которые часто наблюдаются при программировании температуры колонки. Высококипящие загрязняющие вещества из газа-носителя, измерителей газового потока, соединяющих трубок или мембраны медленно концентрируются в начальном участке холодной колонки, а затем, когда температуру колонки повышают, участвуют

в процессе хроматографирования и дают ложные хроматографические пики*.

Разные причины появления таких пиков, а также способы избавления от них обсуждаются в работе Перселла и сотр. [1]. Для этого применяют самоуплотняющиеся колпачки со скользящими пробками, устроенными так, что силиконовая резина находится в контакте с потоком газа-носителя лишь в момент впрыскивания пробы, проводят тщательную очистку соединительных трубок и измерителей потока, а также устанавливают ловушки в питающей линии газа-носителя непосредственно перед входом в колонку.

4.3. ВВОД ПРОБЫ В КОЛОНКУ БЕЗ ДЕЛЕНИЯ ПОТОКА ГАЗА-НОСИТЕЛЯ

Некоторые исследователи полагают, что описанный выше метод концентрирования пробы при низкой температуре и составляет основной принцип, который определяет способ ввода проб без деления потока [2], за исключением того, что еще дополнительно требуется продуть испарительную камеру для удаления из нее остатков пробы.

Однако в действительности в основе способа ввода проб без деления потока лежит эффект растворителя, который впервые анализировал Харрис [3]. Комбинацию предварительного концентрирования пробы и эффекта растворителя (см. ниже) применяли несколько исследователей, однако способ ввода без деления потока можно реализовать и при постоянной температуре, и он отличается, как отмечает Гроб [4], от метода улавливания при низкой температуре. При выборе растворителя для ввода пробы этим способом нужно обращать внимание на его температуру

* «Ghost peaks» (англ.), «Lorelei peaks» (нем.) — «пики-привидения». Автор приводит первую строку стихотворения Г. Гейне «Лорелей». «Ich weiss nicht was soll es bedeuten...» («Я не знаю, что это значит...»). — Прим. ред.

кипения по сравнению с начальной температурой колонки, на тип неподвижной жидкой фазы и на природу компонентов разделяемой смеси. Существенно, чтобы растворитель конденсировался в начале колонки, создавая на этом участке условия значительной перегрузки, благодаря которым он может временно играть роль неподвижной жидкой фазы. Если температура кипения растворителя слишком мала по сравнению с температурой колонки, то этого условия добиться невозможно. Если же температура кипения растворителя слишком высока, то это может препятствовать его отделению от компонентов пробы в процессе хроматографического разделения.

Таким образом, при вводе пробы без деления потока происходит огромное (но временное) уменьшение величины β , характеризующей колонку, если считать сконденсировавшийся растворитель неподвижной жидкой фазой. Если сродство разделяемых веществ к выбранному растворителю не слишком сильно отличается от их сродства к неподвижной жидкой фазе, то соответствующие им величины K_D остаются примерно постоянными. Поскольку величина K_D для каждого из компонентов разделяемой пробы примерно одна и та же для выбранного растворителя и для неподвижной жидкой фазы, а величина β очень мала, то значения k очень велики. Следовательно, каждый компонент пробы сильно связан с жидкой фазой, а число молекул в потоке газа-носителя относительно невелико [выражения (1.1), (1.7), (1.9) и (1.10)]. Перемещающийся в колонке передний фронт хроматографической зоны разделяемой пробы встречает на своем пути «жидкую фазу» все увеличивающейся концентрации и поэтому удерживается сильнее, чем задний фронт этой зоны; в результате при правильной реализации этого способа происходит сужение зоны разделяемой пробы. После удаления из колонки растворителя, чего обычно можно добиться повышением температуры колонки, восстанавливается обычное для данной колонки значение β , обычные значения k для компонентов разделяемой пробы и начинается процесс хроматографического разделения.

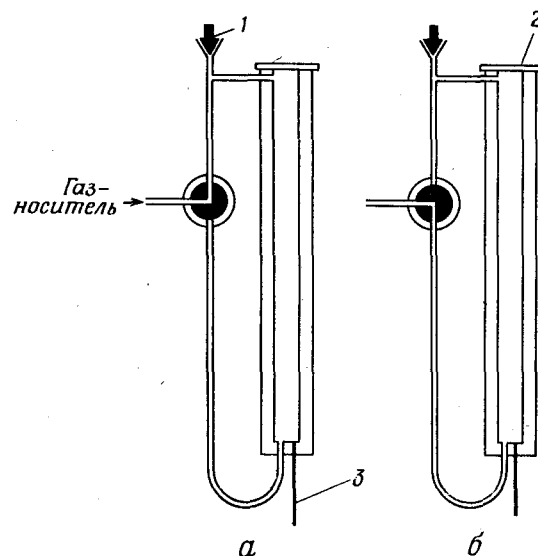


РИС. 4.1. Устройство Шюльте и Аккера [5] для ввода проб при режиме работы без деления потока.

В момент ввода пробы и небольшое время спустя трехходовый кран поддерживают в положении а. Затем для продувки вводной камеры (через игольчатый клапан) кран переводят в положение б; тем временем введенная в хроматограф проба хроматографируется.

1 — игольчатый клапан; 2 — мембрана; 3 — колонка.

Чтобы предотвратить порчу колонки из-за перегрузки ее растворителем, можно применять растворитель, в котором довольно трудно растворяется неподвижная жидкая фаза. Это может способствовать последующему отделению растворителя от компонентов разделяемой пробы, поскольку время удерживания такого растворителя в неподвижной жидкой фазе должно быть относительно небольшим. С другой стороны, этим нельзя злоупотреблять. Определенную неподвижную жидкую фазу выбирают потому, что по отношению к ней компоненты разделяемой пробы имеют приемлемые значения K_D . Если выбрать растворитель, слишком отличающийся от неподвижной жидкой фазы, то по отношению к нему

значения K_D компонентов пробы могут оказаться настолько малы, что, несмотря на высокую концентрацию растворителя, в процессе ввода пробы ее компоненты не будут удерживаться растворителем в достаточной степени. Как и всегда, здесь необходим некоторый компромисс.

Шульте и Аккер [5] описали устройство для ввода проб, которое может работать как в режиме деления потока газа-носителя, так и в режиме без деления потока, причем для работы в последнем режиме в нем предусмотрена возможность продувки потоком газа-носителя (рис. 4.1). В настоящее время усовершенствованная модель такого устройства, оборудованная кранами, приводимыми в действие соленоидными, имеется в продаже (рис. 4.7).

4.4. ДЕЛИТЕЛИ ПОТОКА ГАЗА-НОСИТЕЛЯ

Второй способ, позволяющий избежать появления широких зон пробы в начальном участке колонки, базируется на применении делителя потока. Деление поступающего в колонку газового потока позволяет с большой скоростью продувать испарительную камеру устройства для ввода проб и тем самым быстро выводить из нее разделяемые вещества и в то же время поддерживать ограниченную скорость потока в колонке. В противоположность распространенному мнению основная функция делителя газового потока состоит не только в том, чтобы ограничивать размер вводимой в колонку пробы; часто еще более важная функция этого устройства заключается в том, чтобы обеспечить быструю продувку испарительной камеры для того, чтобы вслед за зоной пробы в колонку поступал поток чистого газа-носителя, а не поток, в котором концентрация пробы убывает экспоненциально. В литературе было описано несколько конструкций делителей потока [6, 7], причем обсуждались также и критерии для оценки линейности делителей потока [8, 9], которые часто неверно используют при срав-

нении устройств, имеющих в продаже. Линейность характеризует качество работы делителя потока, когда он направляет в колонку лишь некоторую долю введенной пробы. В делителе, обладающем низкой линейностью, происходит дискриминация в том смысле, что по-разному может происходить деление низко- и высококипящих веществ. Большинство данных, приводимых в описаниях коммерческих делителей, отражают воспроизводимость деления потока, но не линейность.

Конструктивные характеристики делителей потока обсуждаются в нескольких работах [10, 11]. До недавнего времени большинство делителей, обладающих

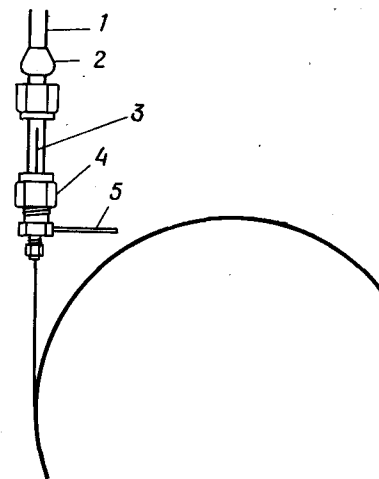


РИС. 4.2. Простой делитель входного потока с коаксиальной трубкой.

Обычно верхний конец стеклянной трубки диаметром 6 мм заполняют мелкими стеклянными шариками (силианизированными), упругую графитовую муфту сдвигают вниз и возможно большую часть трубки делителя, включая и участок, в котором происходит деление потока, помещают в нагреваемую камеру обычного газохроматографического устройства для ввода проб. Из отводящей трубки делителя диаметром $\sim 0,15$ мм можно изготовить держатель для хроматографической колонки. К концу этой трубки подсоединяют ограничитель потока, в качестве которого можно использовать игольчатый клапан, короткую дополнительную колонку или трубку с сужениями.

1—стеклянная трубка (диаметр 6 мм); 2—графитовая муфта; 3—капиллярная колонка; 4—переходник ($1/16 \times 1/4$ дюйм); 5—выводная трубка делителя из нержавеющей стали.

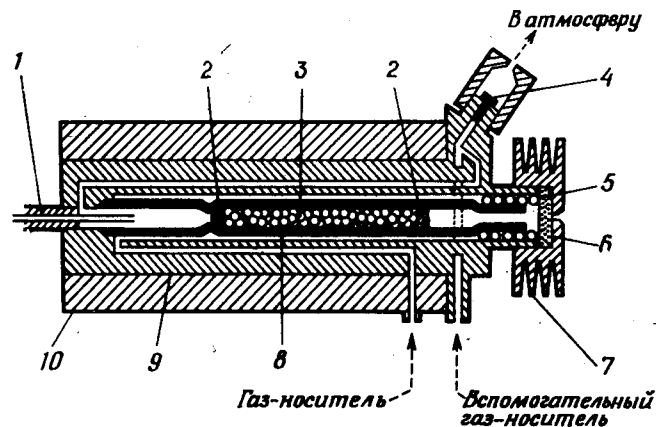


РИС. 4.3. Коммерческий цельностеклянный делитель входного потока [10].

1 — металлический капилляр со стеклянным покрытием; 2 — стекловата; 3 — насадка; 4 — ограничитель; 5 — пружина; 6 — мембрана; 7 — колпачок мембраны; 8 — вспомогательная колонка; 9 — корпус устройства; 10 — нагревательный блок.

высокой линейностью, имели металлические поверхности, находящиеся в контакте с анализируемыми веществами, хотя и признавалось, что из-за этого в них происходит перегруппировка и (или) разложение разделяемых веществ. Разумеется, подобный недостаток исключил бы основное преимущество стеклянных колонок — их инертность. На рис. 4.2 показан простой делитель потока, который легко изготовить из стекла; эта же конструкция применяется в системе, показанной на рис. 4.5. К сожалению, в работе этого делителя наблюдаются случаи значительной нелинейности. В идеале анализируемую пробу нужно испарить, тщательно перемешать и непосредственно перед делением дать ей расшириться. За точкой деления необходимо иметь достаточный буферный объем для уменьшения флуктуаций давления, которые могут возникать при испарении пробы. Желательно также, чтобы до момента деления вводимая проба вступала в контакт только со стеклянными поверхностями и чтобы стеклянные камеры, в кото-

рых происходят испарение, смешивание и расширение, можно было вынимать для периодической очистки и дезактивации (например, силанизации). На рис. 4.3 показан делитель потока, обладающий почти всеми такими свойствами [12], а на рис. 4.4 приведена целиком стеклянная система для ввода проб, обладающая высокой линейностью [11, 13].

При больших соотношениях деления потока может понизиться эффективность испарения пробы: если газ предварительно не нагреть, то высокая скорость газового потока охладит поверхности, на которых должно происходить испарение. При неполном

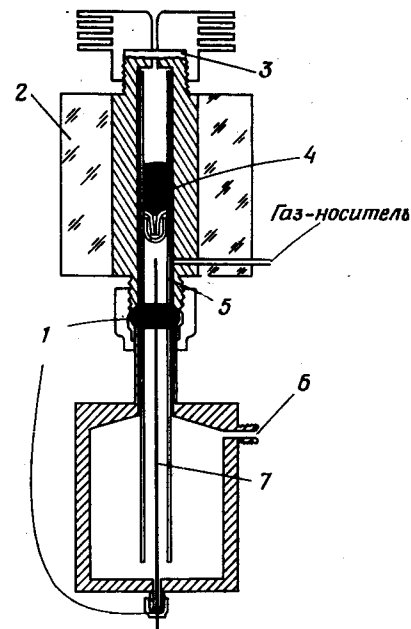


РИС. 4.4. Цельностеклянный делитель входного потока высокой линейности.

Впервые описан Дженнингсом [11]; впоследствии был модифицирован для работы с обычным нагреваемым устройством для ввода проб диаметром 6 мм [13].

1 — графитовые муфты; 2 — нагревательный блок; 3 — мембрана; 4 — стеклянные шарики; 5 — стеклянная направляющая трубка; 6 — выходное отверстие делителя; 7 — колонка.

испарении компоненты вводимой пробы образуют туман или аэрозоль, и состав смеси в точке деления не является ни постоянным в процессе ввода пробы, ни достаточно представительным. Разумеется, это резко снижает линейность.

В некоторых устройствах для ввода пробы предусмотрена возможность выключения делителя потока в процессе ввода пробы, которая позволяет экономить газ-носитель. При работе с таким устройством желательно измерить скорость потока газа-носителя в колонке в тех условиях, которые наиболее характерны для опыта, т. е. при выключенном делителе потока. При открывании первоначально закрытого выходного отверстия делителя давление на входе и в начальном участке колонки падает. Газ-носитель в начальном участке колонки начинает течь в обратном направлении до тех пор, пока в колонке не установится новый более низкий перепад давлений. (При вводе пробы описанным выше способом без деления потока это явление может причинить неприятности, если устройство плохо сконструировано и открыт кран для продувки.) Поэтому необходимо включать делитель за 1—2 мин до ввода пробы; кроме того, выходные отверстия делителя нужно держать открытыми определенное время (обычно от 15 с до 2 мин) и после ввода каждой пробы. Даже если делитель практически не работает, из его выходного отверстия нужно выпускать очень слабый поток газа со скоростью 1—2 мл·мин⁻¹. Это препятствует обратной диффузии загрязнений через выводимый в атмосферу газовый поток, который может приводить к появлению ложных хроматографических пиков и к значительному повышению уровня шумов. Схема такого делителя приведена на рис. 4.5.

На работу делителя потока могут влиять природа анализируемой пробы, размер пробы, температура испарительной камеры и соотношение деления потока. Температура испарительной камеры должна быть по возможности ближе к температуре кипения наиболее высококипящих компонентов разделяемой смеси. В противном случае могут наблюдаться отклонения

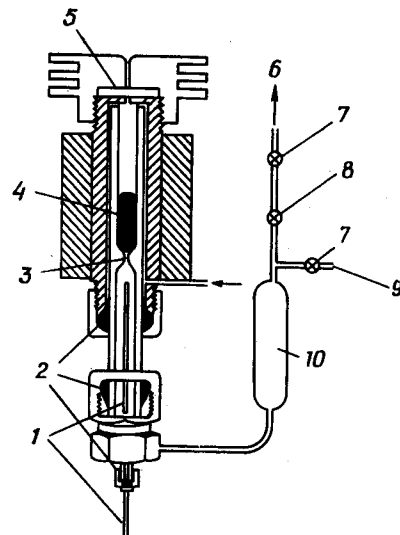


РИС. 4.5. Схема делителя потока, способного работать в прерывистом режиме.

При использовании делителя рекомендуется устанавливать адсорбционный фильтр так, как показано на рисунке.

1—колонка; 2—графитовые муфты; 3—сужение; 4—стеклянные шарики; 5—мембрана; 6—выходная трубка делителя; 7—игольчатый клапан; 8—поворотный кран; 9—отверстие для постоянной продувки; 10—адсорбционный фильтр.

от нормальной работы делителя, которые наиболее сильно проявляются при малых соотношениях деления потока. Подобные отклонения для смеси парафинов ряда C_{13} — C_{18} с температурами кипения в интервале 235—287°C показаны на рис. 4.6; во входной части делителя газ находится под давлением, и при этих условиях температуры кипения анализируемых соединений заметно выше. Температура входной части делителя была равна 250°C. При малых соотношениях деления заметны отклонения от линейности, которые проявляются в дискриминации низкокипящих соединений по отношению к высококипящим. При соотношениях деления выше 1:100 дискриминация гораздо меньше даже при низкой температуре входной части делителя. При более высоких темпера-

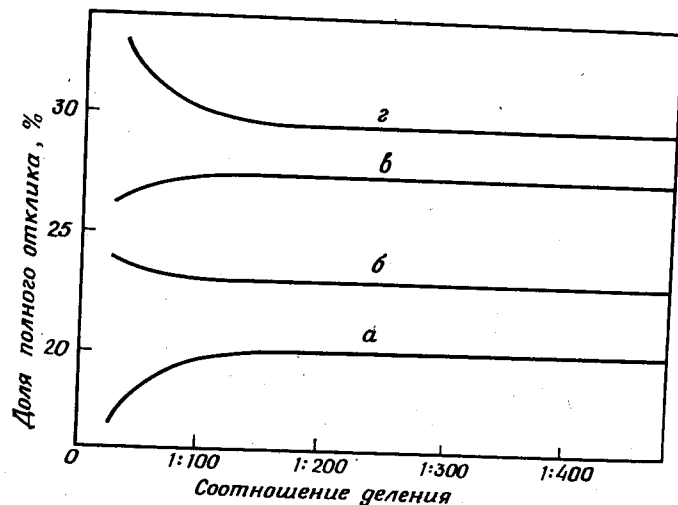


РИС. 4.6. Влияние соотношения деления на линейность делителя. Температура делителя 250 °С. Стандартная смесь: а — тридекан (т. кип. 235 °С); б — тетрадекан (т. кип. 254 °С); в — пентадекан (т. кип. 271 °С); г — гексадекан (т. кип. 287 °С).

турах влияние соотношения деления на работу делителя становится менее заметным. При температуре 275 °С линейность лучше при всех соотношениях деления, а при температуре 300 °С существенной разницы в работе делителя при соотношениях деления 1:100 и 1:400 не наблюдается. Даже при температуре 300 °С можно было наблюдать отклонения от линейности при очень малых соотношениях деления (1:10). Дискриминация этого типа может оказать заметное влияние на работу делителя, и поэтому простая повторяемость результатов — не очень хороший критерий оценки его линейности.

Таким образом, если не учитывать состав анализируемой пробы, можно выделить два фактора, оказывающих наибольшее влияние на линейность делителя: соотношение деления (или внутренняя турбулентность) и температура. При фиксированных и предельных скоростях газового потока в делителях с узкими внутренними каналами и малыми объемами

должна развиваться большая турбулентность, прежде чем испарившаяся проба расширится и разделится; следовательно, при малых соотношениях деления работа таких делителей должна нарушаться в меньшей степени. Если имеется лишь ограниченное количество анализируемой смеси и большие соотношения деления недопустимы (см. ниже), то для повышения линейности делителя можно поднять температуру его входного участка. При анализе термически очень нестабильных соединений низкие температуры входного участка делителя можно компенсировать более высокими соотношениями деления. При необходимости анализа небольшого количества смеси, содержащей нестабильное соединение, наилучшим может оказаться ввод пробы без деления потока.

Недостаток делителей потока в том, что основная часть анализируемой пробы выводится в атмосферу и не используется для анализа. Исследователь, изучающий следовый компонент, сбор которого потребовал значительных усилий, может не пожелать выпускать большую часть пробы в атмосферу. Однако применение делителя потока в комбинации с колонкой типа НС малого диаметра часто обеспечивает более чувствительный анализ, чем колонка большего диаметра без делителя потока, поскольку более узкие хроматографические зоны могут обеспечивать более высокое соотношение масса/время в детекторе (см. ниже).

Еще одна трудность возникает при анализе очень высококипящих соединений, которые могут образовывать аэрозоли в испарительной камере. Делители, используемые для работы с аэрозолями, редко имеют высокую линейность. Герман и Хорнинг [14] предлагали проводить деление после того, как испарившаяся проба пройдет сквозь предварительную короткую колонку с насадкой из подходящего носителя, покрытого небольшим количеством неподвижной жидкой фазы SE 30. Этим обеспечивается превращение в пар всего материала, поступающего в делитель. Кроме того, исключается загрязнение хроматографической колонки нелетучими материалами, которые

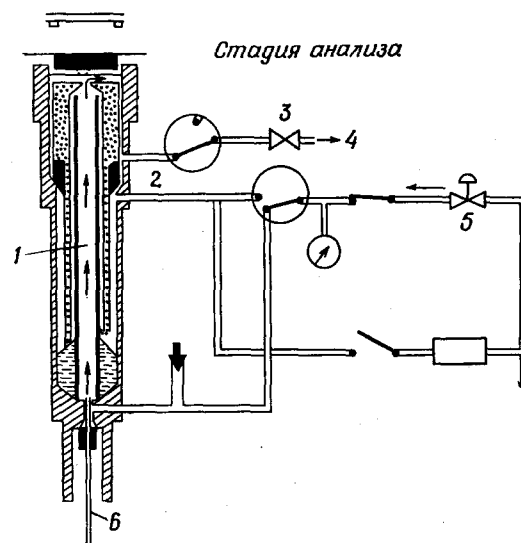
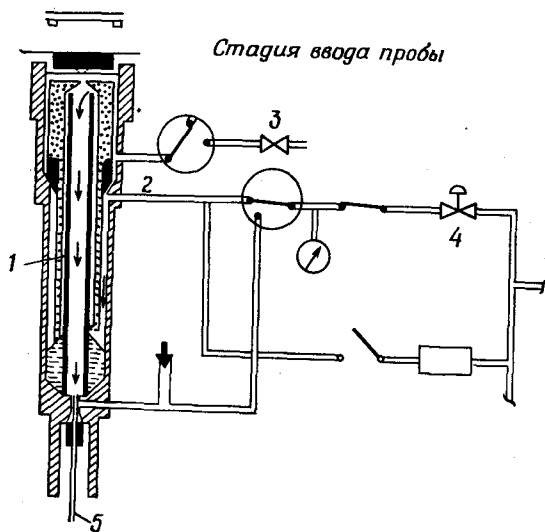
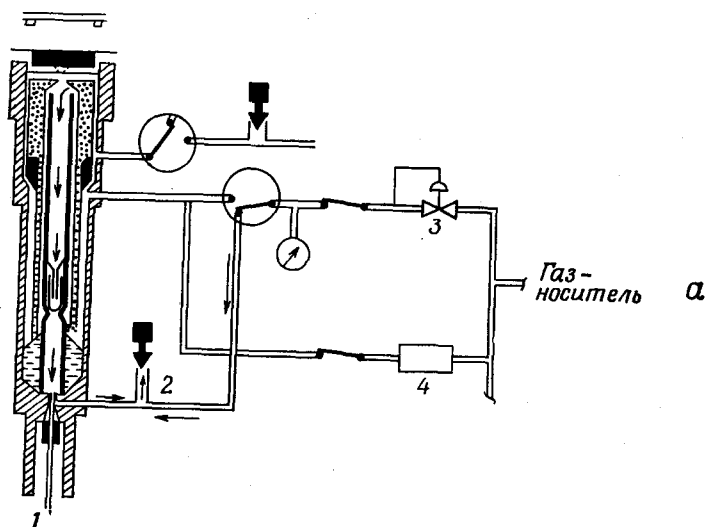


РИС. 4.7. Коммерческое стеклянное устройство для ввода проб, способное работать в режиме с делением потока (а); и в режиме без деления потока (б). При работе с делением потока газ-носитель поступает от регулятора потока; отделенная часть потока отводится в атмосферу через регулятор давления. Такие дефекты, как износ мембраны, изменяют соотношение деления, но не давление на входе в колонку. Это позволяет получать более точные данные анализа. (С разрешения фирмы Hawlett Packard.)

а: 1—колонка; 2—игольчатый клапан; 3—регулятор давления; 4—регулятор потока; б: 1—камера для ввода пробы; 2—сolenoidные краны; 3—игольчатый клапан; 4—регулятор давления; 5—капиллярная колонка. Момент времени: 0 (начало отсчета); в: 1—камера для ввода пробы; 2—сolenoidный кран; 3—игольчатый клапан; 4—отверстие для продувки; 5—регулятор давления; 6—капиллярная колонка. Момент времени: (20–100 с).

часто содержатся в биологических пробах. Наблюдающееся при этом некоторое расширение хроматографических зон не слишком велико.

Выходящий из делителя в атмосферу газовый поток следует пропускать вначале через адсорбционный фильтр (как правило, активированный уголь), а затем через ограничитель потока (см. рис. 4.5) [15]. В качестве ограничителя можно использовать обычный

игольчатый клапан, работающий при комнатной температуре, поскольку при этом не возникает проблем, связанных с конденсацией (из-за которой могло бы измениться соотношение деления). Кроме того, фильтр препятствует загрязнению атмосферы лаборатории основной частью вводимой пробы. Об этом следует помнить всегда и особенно при анализе токсичных веществ.

При любом способе ввода пробы (с делением потока или без него) весьма желательно, чтобы поступающая в колонку проба отражала как качественно, так и количественно состав анализируемой пробы, введенной в испарительную камеру. На первый взгляд такой ввод пробы без дискриминаций или линейность устройства для ввода легче обеспечить способом ввода без деления потока, однако, как ни удивительно, это не всегда так. Многие опытные исследователи убеждены, что хорошо сконструированный и нормально работающий делитель потока часто дает лучшие результаты. На рис. 4.7 показано имеющееся в продаже устройство для ввода проб, которое может работать как в режиме деления потока, так и без него.

Литература

1. Purcell J. E., Downs H. D., Ettre L. S., *Chromatographia*, 8, 605 (1975).
2. Schomburg G., Husmann H., *Chromatographia*, 8, 517 (1975).
3. Harris W. E., *J. Chromatogr. Sci.*, 11, 184 (1973).
4. Grob K., Grob G., Jr. *Chromatogr.*, 94, 53 (1974).
5. Schulte E., Acker L., *Z. Anal. Chem.*, 268, 260 (1976).
6. Ettre L. S., «Open Tubular Columns in Gas Chromatography», Plenum Press, New York, 1965.
7. Hálász I., Schneider M., *Anal. Chem.*, 33, 979 (1961).
8. Ettre L. S., Averill W., *Anal. Chem.*, 33, 680 (1961).
9. Condon R. D., Ettre L. S., «Instrumentation in Gas Chromatography» (J. Krugers, ed.), Centrex Publ., Eindhoven, The Netherlands, 1968.
10. Ettre L. S., Kobot F. J., *Anal. Chem.*, 34, 1431 (1962).
11. Jennings W. G., *J. Chromatogr. Sci.*, 13, 185 (1975).
12. Hartigan M. J., Ettre L. S., *J. Chromatogr.*, 119, 187 (1976).
13. Jennings W. G., *J. Food Chem.*, 2, 185 (1977).
14. German A. L., Horning E. C., *Anal. Lett.*, 5, 619 (1972).
15. Jennings W. G., Adam S., *Anal. Biochem.*, 69, 61 (1975).

Глава 5

УСТАНОВКА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ КОЛОНКИ В ХРОМАТОГРАФ

5.1. ОБЩИЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Подсоединить колонку к хроматографу нетрудно, если предварительно распрямить оба ее конца на длину в несколько сантиметров (рис. 5.1 и 5.2). К сожалению, выпрямление стеклянных капиллярных колонок окружено какой-то тайной, и многие исследователи считают эту процедуру очень трудной, требующей большого опыта и мастерства. В результате было разработано много методик, большинство из которых дают хроматографические системы невысокой эффективности. Чтобы исключить операцию распрямления хроматографической колонки, некоторые фирмы-изготовители удлинняют и изгибают соединительные трубки устройства для ввода проб и (или) детектора. Другие для подсоединения к хроматографу

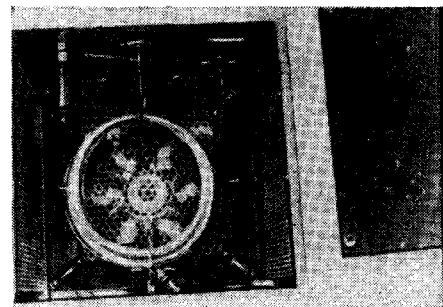


РИС. 5.1. Незакрепленная колонка, установленная в газовом хроматографе Packard 5720.

Делитель входного потока типа показанного на рис. 4.4

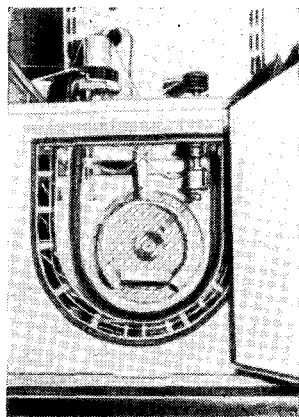


РИС. 5.2. Незакрепленная колонка, установленная в газовом хроматографе серии Packard 427.

Делитель входного потока типа показанного на рис. 4.4. Вспомогательный фотоионизационный детектор HNU, модель P151.

нераспрямленной колонки применяют удлинительные стеклянные или металлические трубки со стеклянным покрытием и соединения с малым мертвым объемом или размягчаемые нагреванием тефлоновые трубки. Поэтому иногда хроматографические системы получаются громоздкими и неуклюжими; в самом худшем случае подобные ухищрения снижают эффективность системы и приводят к значительному расширению задних фронтов хроматографических пиков. В подавляющем большинстве случаев установки, в которых концы колонки были распрямлены так, что один конец можно достаточно глубоко ввести в исправленную камеру, а другой подвести непосредственно к камере детектора, дают лучшие результаты, что видно из зависимостей типа приведенных на рис. 6.2.

Выпрямление — простая операция, не требующая особого мастерства. Для этого нужно нагреть колонку небольшим пламенем, расположив ее так, чтобы она распрямлялась под действием собственной

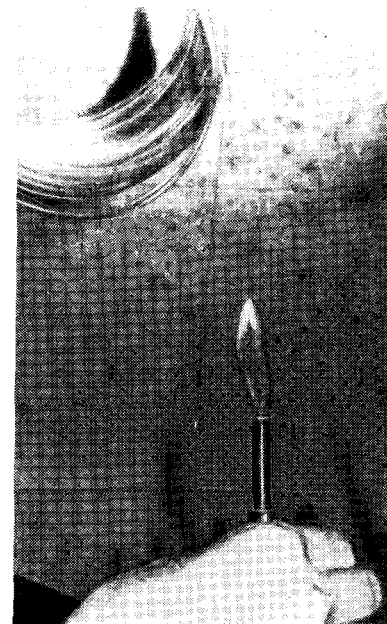


РИС. 5.3. Выпрямление концов колонки при помощи небольшого пламени.

Этим способом был выпрямлен участок длиной 20 см выходного конца колонки, показанной на рис. 5.2; это позволило ввести выпрямленный конец колонки глубоко в фотоионизационную камеру.

тяжести (рис. 5.3). Для выпрямления колонок из натрий-кальциевого или мягкого стекла (к ним относятся практически все колонки с травленной поверхностью) требуется пламя мягче, чем для колонок из боросиликатного стекла. Новичку кажется проще распрямлять колонку, передвигая пламя от конца к середине колонки, однако это может вызвать перемещение неподвижной жидкой фазы в глубь колонки и закупорку ее. Предусмотрительнее начать разогрев в 10—12 см от конца колонки и передвигать пламя к концу; разумеется, нужно следить за тем, чтобы колонка не перегревалась. После выпрямления

следует осмотреть колонку через увеличительное стекло и убедиться в том, что в ней не возникли сужения и что неподвижная жидкая фаза под действием сильного локального нагрева не переместилась и не заблокировала колонку. Обычно такая обработка несколько нарушает пленку неподвижной жидкой фазы, но эти нарушения, как правило, не дают серьезных последствий. Только что установленная в хроматограф колонка с выпрямленными концами дает две отчетливые группы хроматографических пиков, которые обусловлены, по-видимому, продуктами разложения неподвижной жидкой фазы во входном и выходном участках колонки.

Иногда в колонках, концы которых были выпрямлены посредством нагревания, наблюдается расширение задних фронтов хроматографических пиков. В некоторых случаях это, по-видимому, связано с тем, что обнажаются активные центры адсорбции на поверхности стекла, в других, возможно, обусловлено адсорбционными свойствами продуктов разложения неподвижной жидкой фазы. В случае силиконовых неподвижных жидких фаз эта проблема встречается реже, если выпрямление концов колонки вести в атмосфере инертного газа: один конец колонки подсоединяют к источнику инертного газа (можно использовать устройство для ввода проб газового хроматографа) и, пропуская поток азота или гелия сквозь колонку, выпрямляют другой ее конец. По сообщениям некоторых исследователей колонки с полигликольными неподвижными жидкими фазами (например, карбовакс 20 М) дают лучшие результаты, если при выпрямлении через них пропускать поток воздуха.

Другой способ избежать проблем, связанных с расширением задних фронтов хроматографических пиков, возникающим в результате выпрямления концов колонки, заключается в следующем. Выпрямленный конец колонки подсоединяют к входному устройству хроматографа и поднимают давление на входе до 0,5—1 атм. К другому концу колонки под-

соединяют шприц объемом 1—2 мл, заполненный раствором карбовакса 20 М в дихлорметане с концентрацией 5—10 мг·мл⁻¹, выдавливают в нее из шприца порцию раствора, преодолевая давление газа в колонке. Введенный раствор должен заполнить только выпрямленный участок колонки и не больше. После этого, постепенно ослабляя усилие на поршень шприца, добиваются того, чтобы раствор карбовакса 20 М выталкивался из колонки давлением газа в ней со скоростью примерно 1 см·с⁻¹, и продолжают продвигать колонку газом еще в течение примерно 1 ч. Затем всю процедуру повторяют с другим концом колонки. Карбовакс 20 М обладает достаточной поверхностной активностью и должен адсорбироваться и блокировать все активные центры. Влияние этой обработки на характеристики удерживания колонки незначительно даже при использовании таких неполярных неподвижных жидких фаз, как SE 30 или OV 101.

Концы колонки можно выпрямлять и при помощи короткой (длиной около 5 см) трубки из нержавеющей стали с внутренним диаметром примерно 3 мм, нагреваемой электрическим током. В лаборатории автора для нагревания такой трубки используют трансформатор от бормашины, который обеспечивает ток около 100 А при напряжении примерно 1 В, но ее можно нагревать также электрической спиралью или пламенем. Чтобы предотвратить поломку выпрямленного капилляра, трубку можно смазать внутри порошком графита или дисульфида молибдена. (Дисульфид молибдена применяют для смазки мотоциклетных цепей.) Выпрямляемый конец колонки вводят в нагретую трубку и тут же вынимают (рис. 5.4). При использовании нагретой трубки гораздо реже происходит перемещение или разложение неподвижной жидкой фазы в колонке. В настоящее время разрабатывается портативное устройство подобного типа, и скоро оно поступит в продажу.

Для присоединения хроматографической колонки к входному устройству хроматографа обычно

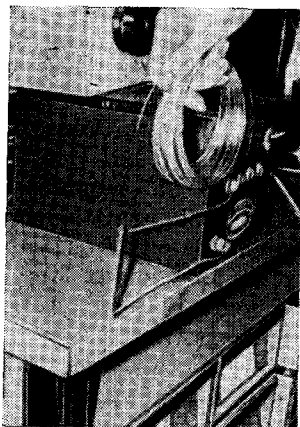


РИС. 5.4. Выпрямление концов колонки при помощи электрически нагреваемой выпрямляющей трубки.

Источник электрического тока — трансформатор от бормашины, хотя столь же эффективна изолированная трубка, обмотанная нихромовой проволокой.

применяли и применяют в настоящее время* муфты из силиконовой резины, свинца, специальных материалов (например, *веспел*) или муфты из графита. Муфты из силиконовой резины диаметром 3,5—4 мм легко изготовить при помощи сверла для пробок. Такие муфты удовлетворительно работают при температурах примерно до 200°C, но при больших температурах быстро теряют эластичность. Муфты из свинца и материала *веспел* часто привариваются к колонке так, что при попытках снять муфту колонка обычно ломается. Но это не опасно: небольшие изменения длины колонки не сказываются заметно на ее эффективности, но муфту повторно использовать уже не удастся. В этом смысле лучше муфты из графитированного материала *веспел*, но они недостаточно упруги, вследствие чего их требуется более точно подбирать по размерам. Обычные графитовые муфты хрупки и часто ломаются при разборке соединения; в настоящее время в продаже появились относительно недорогие более эластичные графитовые муфты; такая муфта прекрасно облега-

* Vespel — полиимидный термостойкий (350°C) материал, который производит фирма DuPont. — *Прим. ред.*

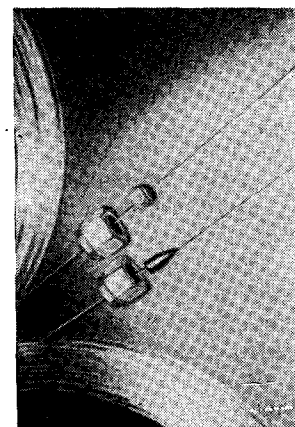


Рис. 5.5. Вверху: широко применяют уплотнители из силиконового каучука, но они недостаточно термостойки и, кроме того, при затяжке гайки уплотнитель может сместиться и сломать колонку. Внизу: муфты из «упругого графита» при сжатии принимают нужную форму и образуют термостойкое уплотнение; их легко можно удалить и использовать повторно.

колонку, выдерживает температуры по меньшей мере до 599°C, и ее можно использовать повторно (рис. 5.5). В настоящее время идут испытания высокотемпературной резиновой муфты, которая скоро поступит в продажу и может оказаться наиболее эффективной.

5.2. УНИФИЦИРОВАННЫЕ БЛОКИ

С недавних пор несколько компаний начали выпускать унифицированные блоки или ячейки хроматографов, в которых стеклянная колонка обычно закрыта предохранительной металлической сеткой. Кайзер [1] предлагает блок кассетного типа, в котором имеется стеклянная хроматографическая колонка, приваренная к двум платиноиридиевым трубкам с коническими переходниками на концах; этот блок можно вставить в специально приспособленный для

него газовый хроматограф. Для уменьшения перемешивания уже разделенных соединений в соединительной трубке ее внутреннюю поверхность покрывают слоем неподвижной жидкой фазы, благодаря чему эта трубка обладает хроматографическими свойствами. Однако недавно Гроб [2] отметил, что в определенных условиях даже благородные металлы способны проявлять высокую химическую активность так, что в этих условиях можно наблюдать адсорбцию и разложение. Еще одно компактное устройство, недавно поступившее в продажу, включает также делитель потока и переходник для подсоединения к линии дополнительного газового потока. Все каналы этого устройства, от ввода пробы до детектора, выполнены из стекла (рис. 5.6). Оно отличается тем, что с его помощью можно быстро и без существенных переделок установить капиллярную колонку практически в любой газовый хроматограф, рассчитанный на работу с обычными насадочными колонками, имеющими внутренний диаметр 3 или 6 мм.

Для работы с хроматографом, в котором насадочную колонку заменили капиллярной, обычно требуется обеспечить регулируемый поток дополнительного газа (азота) (см. ниже), установить делитель потока (за исключением тех случаев, когда используется унифицированный блок) и предусмотреть вы-

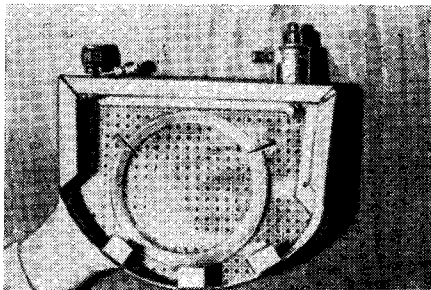


РИС. 5.6. Унифицированный блок с делителем потока, входным устройством для вспомогательного газа и кассетой для хроматографической колонки.

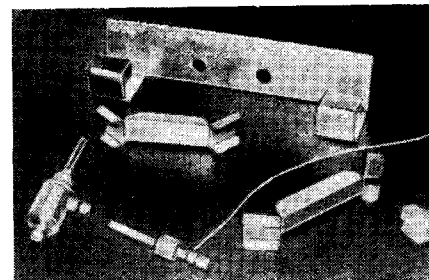


РИС. 5.7. Детали, применяемые для переделки газового хроматографа Varian 3700 для работы со стеклянной капиллярной колонкой.

Сверху вниз и слева направо: держатель колонки, фиксатор колонки, делитель потока, переходник для потока вспомогательного газа, фиксатор колонки.

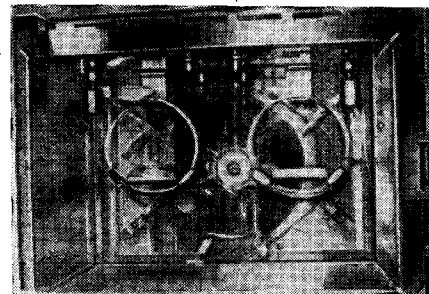


РИС. 5.8. Две капиллярные колонки, установленные в газовом хроматографе Varian 3700 при помощи деталей, показанных на рис. 5.7.

пуск газового потока после его деления. Обычно требуется еще байпасная линия для регулятора газового потока (если такой имеется). Для регулирования потоков вспомогательного газа и газа-носителя можно пользоваться ограничителями из коротких медных трубок. Для получения требуемой степени ограничения эти трубки можно сплющить тисками, следя за скоростью потока у входа в детектор. Слишком силь-

ное сужение можно исправить, обжимая трубку в другой плоскости.

Для иллюстрации на рис. 5.7 приведены детали, применяемые для переделки стандартного хроматографа Varian 3700 с нагреваемыми устройствами для ввода пробы диаметром 6 мм в варианте для работы с капиллярной колонкой, а на рис. 5.8 показан весь хроматограф после переделки.

5.3. ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЙ ГАЗ

Для пламенно-ионизационного детектора (ПИД) обычно оптимальны газовые смеси, состоящие из 1 объема водорода и 1 объема азота на 10 объемов воздуха. Значительные отклонения от оптимального состава газовой смеси приводят к нарушению условий сгорания анализируемых веществ, а меньшие отклонения уменьшают чувствительность и величину сигнала детектора. Требуемое количество поступающей в детектор смеси газа-носителя с водородом определяется размером сопла детектора; малое количество смеси неспособно поддерживать пламя, слишком большое — задувает его. Эти факторы учитывают при разработке геометрической конфигурации и конструкции электродов и воспламенителя. Большинство хроматографов с ПИД, поступающих в продажу, рассчитаны на скорости потока газа-носителя порядка $30\text{--}60\text{ мл}\cdot\text{с}^{-1}$ плюс подаваемое эквивалентное количество водорода. При установке в хроматограф капиллярной колонки, рассчитанной на скорости потока в пределах $0,3\text{--}3\text{ мл}\cdot\text{с}^{-1}$, скорость газового потока уменьшается до $0,3\text{--}3\text{ мл}\cdot\text{с}^{-1}$ и чувствительность детектора круто падает, если не поддерживать величину отношения объемов водорода и газа-носителя равной 1:1: в таких условиях пламя может погаснуть. Очевидный выход — применять вспомогательный газ так, чтобы суммарный поток этого газа и газа-носителя имел требуемую скорость $30\text{ мл}\cdot\text{мин}^{-1}$; затем к этому суммарному потоку можно подмешивать поток водорода с той же скоростью $30\text{ мл}\cdot\text{мин}^{-1}$. Для

получения наилучших результатов анализа и уменьшения расширения хроматографических пиков важно, чтобы вспомогательный газ поступал в систему в той точке относительно колонки, которая указана на рис. 5.9. При анализе высококипящих компонентов целесообразно предварительно нагревать вспомогательный газ. Иначе на этом важном участке хроматографа будут конденсироваться высококипящие компоненты, что приведет к значительному расширению хроматографических зон и повышению уровня шумов. Этот дефект может проявиться также в появлении расширенных хроматографических пиков с острыми выступами.

Студенты иногда удивляются, обнаружив, что добавление вспомогательного газа (вполне логично они рассматривают это как разбавление) приводит к

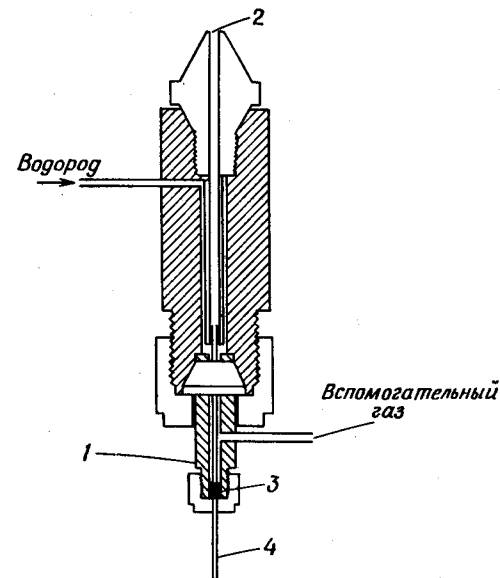


РИС. 5.9. Схема идеального расположения входного конца колонки относительно точек ввода вспомогательного газа и водорода.

1 — переходник; 2 — струя пламени; 3 — графитовая муфта; 4 — колонка.

повышению чувствительности. Объясняется это, конечно, тем, что ПИД чувствителен к скорости поступления в него массы вещества, а не к концентрации; при использовании вспомогательного газа в колонку поступает то же количество вещества, что и прежде, но с большей скоростью, причем эту скорость выбирают такой, при которой чувствительность детектора максимальна. Аналогичным образом следует рассеять сомнения исследователя, который получал едва различимые хроматографические пики, работая с насадочной колонкой и вводя большие пробы; он полагает, что при малых пробах, годных для колонок типа НС, хроматограф вовсе потеряет чувствительность. Колонка типа НС дает очень узкие хроматографические зоны разделяемых компонентов, благодаря чему скорость поступления вещества в детектор часто получается высокой, и детектор дает интенсивный и короткий сигнал. На хроматограмме получаются высокие узкие пики в противоположность низким широким пикам, которые получают при разделении больших проб на насадочной колонке.

5.4. ПРЕДВАРИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ

Для оценки эффективности системы удобно пользоваться смесями углеводородов, поскольку они относительно невосприимчивы к адсорбционным взаимодействиям с поверхностью аппаратуры, вызывающим расширение хроматографических зон. Для проведения первого теста в систему обычно вводят метан, который можно использовать и для регулировки скорости газового потока в колонке. Для начала рекомендуется установить линейную скорость потока, равную $15 \text{ см} \cdot \text{с}^{-1}$ для азота в качестве газа-носителя или $30 \text{ см} \cdot \text{с}^{-1}$ для гелия. Метан должен давать иглоподобный хроматографический пик; если это не так, то нужно выяснить и устранить неисправность системы. Наиболее вероятная причина искажения пика ме-

тана — наличие мертвых объемов во входном устройстве хроматографа или в блоке детектора. Если имеется делитель потока, то может оказаться слишком малым соотношение деления; при вводе пробы без деления потока причина может крыться в недостаточной очистке испарительной камеры при ее продувании. Последнее может быть связано со смещением, отсутствием или поломкой направляющей трубки устройства для ввода проб, поскольку при этом образуются мертвые пространства, содержимое которых медленно диффундирует в поток газа-носителя. Во всех этих случаях ввод пробы в колонку получается растянутым во времени, и даже для метана получается искаженный асимметрический хроматографический пик. Чрезмерная затяжка гайки соединения колонки с детектором может привести к появлению трещин в соединительной муфте или может произойти сдвиг колонки из-за смещения муфты из силиконовой резины. Если это происходит, то разделенные в колонке вещества частично вновь перемешиваются, прежде чем они медленно продиффундируют в поток вспомогательного газа, и вследствие этого тоже получают более широкие хроматографические пики. Если дефект не столь серьезен, например очень небольшой мертвый объем во входном устройстве или выходное отверстие колонки расположено на 1—2 мм ниже входного отверстия для газа-носителя, хроматографические пики могут быть хорошей формы, но иметь слегка растянутые задние фронты.

После того как получены хорошие результаты с метаном, в хроматограф следует ввести смесь углеводородов гомологического ряда, температуры кипения которых немного выше температур кипения соединений, предназначенных для анализа; введение в стандартную смесь одного или двух спиртов может облегчить обнаружение нежелательных явлений, связанных с адсорбцией. Сильное расширение более поздних хроматографических пиков может быть обусловлено недостаточно высокой температурой входного устройства, или детектора, или недостаточным

предварительным подогревом вспомогательного газа. Асимметрическое расширение задних фронтов всех пиков наблюдается, когда входное устройство или начальный участок колонки загрязнены материалом, в котором растворяется анализируемая проба. Подобные дефекты могут быть вызваны крошками мембраны из силиконовой резины, попавшими во входное устройство или застрявшими в колонке, а также сгущениями неподвижной жидкой фазы в колонке. Хорошая форма хроматографических пиков углеводов и расширение заднего фронта, вызываемое спиртом, таким, как гексанол-1, свидетельствует о наличии адсорбции в системе. Иногда адсорбцию можно предотвратить силанизацией каналов входного устройства, но если адсорбция идет в самой колонке, то необходимы соответствующие добавки в процессе нанесения неподвижной жидкой фазы.

Для предварительной оценки качества хроматографической системы и последующих регулярных проверок ее стабильности Гроб [3] рекомендует пользоваться стандартными смесями двух разных типов. Одна из этих смесей, предназначенная для оценки полярности, состоит из нонанона-5, октанола-1, нафталина и четырех углеводов — последовательных членов гомологического ряда. Для колонок используют углеводороды C_9 , C_{10} , C_{11} и C_{12} , а для наиболее полярных — C_{13} , C_{14} , C_{15} , C_{16} . Полярность колонки определяют по положению хроматографических пиков первых трех компонентов стандартной смеси относительно пиков алканов, т. е. по индексам удерживания этих компонентов. Форма этих пиков и их высота по сравнению с высотой пиков алканов позволяют судить об адсорбции в системе. Другую стандартную смесь, представляющую собой раствор 2,6-диметиланилина и 2,6-диметилфенола в гексане, применяют для проверки того, является ли данная колонка практически нейтральной или проявляет кислотные или основные свойства.

Если хроматографические пики всех компонентов стандартной смеси симметричны и степень разделения удовлетворительна, то система готова к работе.

Небольшими изменениями скорости потока газа-носителя можно добиться заметного роста эффективности; для проведения трудных разделений или в случаях, когда требуется максимальная эффективность, рекомендуется испытать две или три скорости газового потока в диапазонах $u = 8\text{--}25 \text{ см} \cdot \text{с}^{-1}$ для азота и $u = 20\text{--}40 \text{ см} \cdot \text{с}^{-1}$ для гелия (см. рис. 8.3—8.5).

Для первоначального анализа сложных природных веществ или для разделения соединений, обладающих близкими характеристиками удерживания, рекомендуется применять высокоэффективные хроматографические системы, работающие в оптимальных условиях. Как уже было отмечено в гл. 1 и 3, эффективность колонки можно повысить путем уменьшения толщины пленки неподвижной жидкой фазы до минимума, при котором емкость колонки еще достаточна для нормальной работы детектора, и путем уменьшения диаметра колонки. Оба эти изменения приводят к изменению величины β , характеризующей колонку. Уменьшение внутреннего диаметра колонки лимитируется ростом перепада давлений на ней, который обратно пропорционален квадрату диаметра колонки. Разумеется, эти величины можно изменять лишь в процессе изготовления колонки, но не при работе с готовым хроматографом.

Литература

1. Kaiser R., J. Chromatogr., 112, 455 (1975)
2. Grob K., Chromatographia, 9, 509 (1976).
3. Grob K., Grob G., Chromatographia, 4, 422 (1971).

Глава 6

ИЗМЕРЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ
ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ КОЛОНКИ

6.1. ОБЩИЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Следует еще раз отметить тот факт, что измерения эффективности колонки большинством способов отражают не только эффективность самой колонки, но и эффективность хроматографической системы в целом. Входное устройство, соединения колонки с хроматографом, положение точки ввода в систему вспомогательного газа, недостатки в характеристиках газового потока, которые часто связаны с наличием мертвых объемов, трещин в каналах устройства для ввода проб или наличием соединительных линий, иными словами все, что с момента ввода пробы до регистрации хроматографического пика оказывает влияние на разделение и вызывает расширение пиков и перемешивание уже разделенных компонентов пробы, все это вносит вклад в данные при измерении эффективности.

Несмотря на то что большинство исследователей признают несовершенство понятия теоретической тарелки (см. ниже), его все еще широко применяют для описания эффективности колонки. Колонки, поступающие в продажу, бывают обычно номинальной длины, и в их паспорте иногда указывают соответствующее гарантированное число теоретических тарелок (или, очень редко, число эффективных теоретических тарелок). Число теоретических тарелок представляет собой некоторую информацию для покупателя; как правило, колонка с большим числом теоретических тарелок способна обеспечить лучшее разделение. Однако эта характеристика зависит и от природы функциональной группы стандартного со-

единения, и от соответствующей ему величины k (см. рис. 1.3). Иногда поставляют колонки, указывая для них лишь число эффективных теоретических тарелок без указания длины колонки. В других случаях указывают длину колонки и не указывают величины N или H , но такая информация ничего не говорит о разделительной способности колонки; разделение на более длинных колонках требует большего времени. В идеале стремятся к возможно большему числу эффективных теоретических тарелок при малой длине колонки. Иногда эффективность колонки описывают как число теоретических тарелок на один метр длины колонки, причем эту величину используют как критерий оценки эффективности нанесения слоя неподвижной жидкой фазы. Эттре [1] описывает теоретически максимально достижимую эффективность колонки типа НС соотношением вида

$$h_{\min} = r_0 \left[\frac{1 + 6k + 11k^2}{3(1+k)^2} \right]^{1/2}. \quad (6.1)$$

Согласно этому соотношению, при идеальном нанесении пленки неподвижной жидкой фазы в колонке (предполагая $k=4$) получают эффективности, приведенные в табл. 6.1. На практике иногда получают большие эффективности, но это бывает редко. Фактически каждую из этих величин можно рассматривать как цель, которую не столь легко достигнуть, причем опыт показывает, что на неполярных колонках это осуществить легче, чем на полярных.

Таблица 6.1

r_0 (мм)	$h_{\min}$	$n_{\max}/\mu$	$H_{\min}$	$N_{\max}/\mu$
0,05	0,08	12.500	0,13	7700
0,10	0,16	6250	0,26	3850
0,125	0,20	5000	0,32	3125
0,25	0,41	2440	0,64	1560
0,375	0,61	1640	0,96	1040
0,50	0,82	1220	1,28	780

При использовании перечисленных выше способов описания эффективности обычно принимают, что значения эффективности аддитивны: если колонке длиной 20 м с эффективностью 3000 теоретических тарелок на 1 м соответствует 60 000 теоретических тарелок, то колонке с таким же слоем неподвижной жидкой фазы длиной 60 м будет соответствовать 180 000 теоретических тарелок, значительно превышающее половину числа теоретических тарелок, соответствующего целой колонке.

6.2. ЧИСЛО РАЗДЕЛЕНИЙ

Обсудив несовершенство описанных выше способов оценки эффективности, Кайзер в работе [3] отметил преимущества использования для этой цели числа разделений*, впервые предложенного Туркельтаубом и Жуховицким [4]. Соответствующий способ оценки эффективности, применимый и для разделений с программированием температуры, дает более реалистическую меру эффективности колонки, причем для его осуществления можно пользоваться стандартными соединениями того же типа, что и анализируемые соединения. На практике разделение двух членов гомологического ряда, различающихся одной CH_2 -группой, рассчитывают по формуле (рис. 6.1)

$$TJ = \frac{t_{R(C_{n+1})} - t_{R(C_n)}}{\omega_{0,5(C_n)} + \omega_{0,5(C_{n+1})}} - 1. \quad (6.2)$$

Ввиду того что число разделений зависит от коэффициентов емкости стандартных соединений, эти величины также следует указывать. Определенную роль играет и средство стандартных соединений к неподвижной жидкой фазе; при использовании жидкой фазы карбовакс 20 М спирты всегда характеризуются

* Separation number (англ.), Trennzahl (нем.). — число разделений. — Прим. ред.

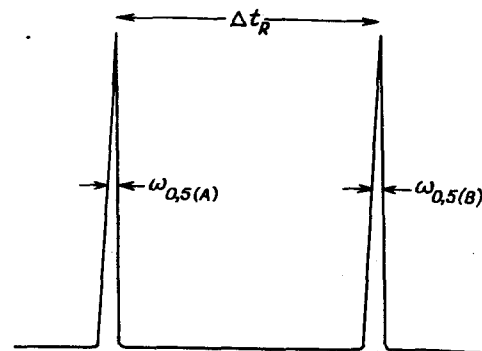


РИС. 6.1. Метод определения числа разделений.

$$TZ = \frac{\Delta t_R}{\omega_{0,5(A)} + \omega_{0,5(B)}} - 1,$$

где А и В — два гомолога, различающиеся на одну метиленовую группу.

большим числом разделений, чем эфиры или углеводороды. Как отмечал Кайзер [5], число разделений не следует путать с критерием разделения; это совершенно разные понятия.

Если для определения числа разделений взять два углеводорода гомологического ряда и учесть, что в системе индексов удерживания Ковача эти углеводороды различаются на 100 единиц, то можно рассчитать число разделений, требующееся для разделения двух соединений с известными индексами удерживания

$$TZ = \frac{100}{\Delta I} - 1. \quad (6.3)$$

Так, для разделения бутил-2-метилбутаноата ($I_{100^\circ\text{C}}^{20\text{M}} = 1234$) и *n*-пентанола ($I_{100^\circ\text{C}}^{20\text{M}} = 1237$) требуется колонка, характеризующаяся числом разделений

$$TZ = \frac{100}{3} - 1 \sim 32.$$

6.3. ДРУГИЕ ПОНЯТИЯ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ДЛЯ ОПИСАНИЯ ХАРАКТЕРИСТИК КОЛОНКИ

Хроматографисты-практики уже давно ощущают неудовлетворенность установившимися способами оценки качества работы хроматографической колонки. Данные измерений как числа теоретических тарелок, так и числа эффективных теоретических тарелок, по сути, не дают никакого представления о действительной эффективности, особенно в условиях программирования температуры. Более точное представление дает число разделений, но значения этого критерия характеризуют лишь ограниченную область хроматограммы, поскольку они зависят от коэффициентов емкости стандартных соединений. Ни один из соответствующих способов оценки качества колонки не позволяет оценить продолжительность анализа, а во многих случаях такая информация чрезвычайно важна.

Паушман [6] предложил новый способ оценки эффективности колонки, опирающийся на взаимосвязь нескольких хроматографических величин. Кайзер [7] предложил использовать для этой цели величину, названную им мощностью разделения SP , равную отношению суммы чисел разделений для нормальных углеводов по всей шкале индексов удерживания от $I = 100$ до предельного значения для данной системы к исправленному времени удерживания последнего пика хроматограммы:

$$SP = \frac{\sum TZ}{t'_{R\text{final}}} \quad (6.4)$$

Если t'_R выражено в минутах, то величина SP равна числу хроматографически разделенных соединений за 1 мин на данной колонке, т. е. в этой величине учитывается временной фактор.

Недавно Кайзер [5] предложил несколько новых способов оценки эффективности колонки. Приведем аргументы против использования числа теоретических

тарелок и числа эффективных теоретических тарелок в качестве критериев оценки эффективности, он ввел новую величину n_{actual} , определяемую следующим образом. На оцениваемой колонке проводят анализ ряда соединений, точно измеряют ширину полученных хроматографических пиков на половине высоты и строят график зависимости этой величины от коэффициента емкости. Для построения графика пользуются методом наименьших квадратов. После этого путем экстраполяции находят ширину хроматографических пиков на половине высоты для гипотетических веществ, обладающих коэффициентами емкости k , равными 0 и 10. Пусть полученные величины равны b_0 и b_{10} соответственно. Тогда величину n_{actual} вычисляют по формуле

$$n_{\text{actual}} = 5,54 \left(\frac{t'_{R(10)}}{b_{10} - b_0} \right). \quad (6.5)$$

Поскольку $t'_{R(10)}$ — исправленное время удерживания вещества с $k = 10$ и $k = t'_R/t_M$, то формулу (6.5) можно записать в виде

$$n_{\text{actual}} = 5,54 \left(\frac{10t_M}{b_{10} - b_0} \right)^2. \quad (6.6)$$

Соответствующее значение числа разделений имеет вид

$$TZ_{10} = \left(\frac{10t_M}{b_{10} + b_0} \right) - 1. \quad (6.7)$$

Затем Кайзер расширил это понятие, введя величину *мощность числа разделений* (TZ_t), в которой учитывается временной фактор. Определение ее опирается на тот факт, что с момента ввода до момента выхода из колонки вещества, характеризующегося величиной TZ_{10} , проходит $(10 + 1)t_M$ единиц времени

$$TZ_t = \frac{TZ_{10}}{11t_M}. \quad (6.8)$$

Величины TZ_{10} и n_{actual} можно связать между собой следующим образом. Перепишем выражение

(6.6) в виде

$$10_{t_M} = (n_{\text{actual}})^{1/2} = \frac{1}{\sqrt{5,54}} = (b_{10} - b_0), \quad (6.9)$$

и выражение (6.7) — в виде

$$10_{t_M} = (TZ_{10} + 1)(b_{10} + b_0). \quad (6.10)$$

Приравнявая последние выражения и производя перегруппировку членов, получим

$$TZ_{10} = 0,425 \left(\frac{b_{10} - b_0}{b_{10} + b_0} \right) (n_{\text{actual}})^{1/2} - 1. \quad (6.11)$$

Введенную Кайзером величину можно использовать и для того, чтобы установить, сколько хроматографических пиков, более или менее равномерно распределенных в интервале значений индекса удерживания, равном 100, можно получить на данной колонке с учетом ее полярности

$$TZ_{100} = \frac{100}{I_2 - I_1} - 1. \quad (6.12)$$

В этом выражении I_2 и I_1 — индексы удерживания двух разделенных веществ.

В дополнение к этому Кайзер [8] суммировал некоторые приведенные выше результаты и логически обосновал введение понятия *реальное качество разделения* хроматографической системы. В этой величине учитываются два фактора, которые видны из рис. 6.2. Один из них — степень расширения хроматографических зон, связанная с ростом коэффициента емкости и характеризующаяся тангенсом угла наклона прямой, подобной представленным на рис. 6.2:

$$\frac{b_{10} - b_0}{10_{t_M}}$$

Другой фактор — величина отрезка b_0 , отсекаемого прямой на вертикальной оси; на эту величину оказывают значительное влияние такие несовершенства системы, как слишком малое соотношение деления потока на входе, наличие мертвых объемов, неудачное расположение входного отверстия для потока

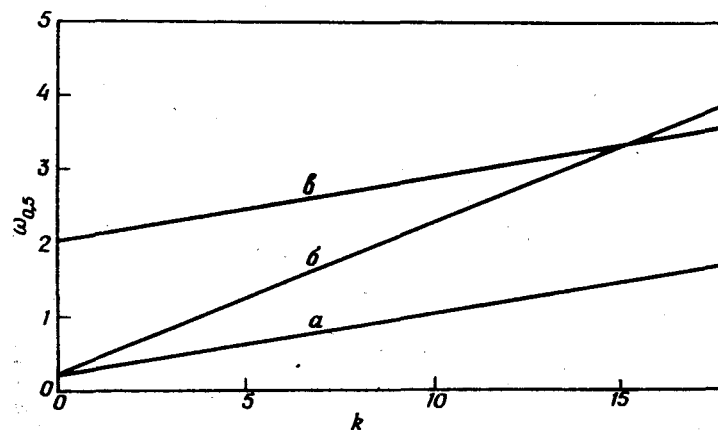


РИС. 6.2. Графики для оценки работы колонки по Кайзеру [8].

Углы наклона прямых определяются главным образом эффективностью самой колонки, а величина отрезка, отсекаемого прямой на оси ординат, характеризует в основном эффективность всей хроматографической системы.

а — высокоэффективная колонка в хорошей хроматографической системе; б — менее эффективная колонка в хорошей хроматографической системе; в — высокоэффективная колонка в плохой хроматографической системе. Поскольку k не зависит, а $\omega_{0,5}$ зависит от длины колонки, то подобные простые графики для разных колонок не сравнимы (см. текст).

вспомогательного газа относительно выходного конца колонки, чрезмерный объем соединительных трубок и другие. Для получения хороших результатов анализа требуется хроматографическая система, для которой прямая типа приведенных на рис. 6.2 имеет малый наклон и пересекает вертикальную ось по возможности ближе к началу координат.

Периодическая оценка качества системы по способу Кайзера может принести большую пользу, так как при этом исследователь имеет возможность вовремя обнаружить ухудшение свойств хроматографической колонки или такие неисправности, как поломка трубки делителя потока, проявляющаяся в возрастании величины b_0 . Применимость этого способа для сравнения колонок ограничена, поскольку для колонок разной длины соответствующие им графики имеют разные наклоны. При одних и тех же соотношениях фаз и условиях разделения величина k

не зависит от длины колонки, но ширина хроматографического пика пропорциональна корню квадратному из длины колонки. Данные, приведенные в табл. 6.2, получены экспериментально с применением

Таблица 6.2

L (м)	n^a	h	m	b_0	b_{10}
85	224 300	0,38	0,53	0,58	5,9
10	28 000	0,36	0,49	0,29	2,1
3,5	10 700	0,33	0,15	0,21	1,7

^a Величина k для стандартного соединения равна 5,5.

отрезков одной и той же колонки общей длиной 80 м. Несмотря на то что эти данные не полностью согласуются с результатами теоретических вычислений, расхождения находятся в пределах ошибки эксперимента и подтверждают выводы автора. Полученные значения m и b_0 для коротких отрезков колонки достаточно хороши, однако ясно, что целая колонка обладает гораздо большей эффективностью разделения.

Литература

1. Ettore L. S., «Open Tubular Columns in Gas Chromatography». Plenum Press, New York, 1965.
2. Grob K., Grob G., J. Chromatogr. Sci., 7, 515 (1969).
3. Kaiser R., Anal. Chem., 189, 1 (1961).
4. Turkeltaub N. M., Zuchowitzkij A. A., «Fortschrittsberichte Gas Chromatographie 1959», Akad. Verlag, Berlin, 1961.
5. Kaiser R., Chromatographia, 9, 337 (1976).
6. Pauschmann H., Chromatographia, 9, 517 (1976).
7. Kaiser R., Chromatographia, 8, 491 (1975).
8. Kaiser R., Chromatographia, 9, 463 (1976).

Глава 7

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЕЛИЧИН УДЕРЖИВАНИЯ

7.1. ОБЩИЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Удерживание вещества в процессе хроматографического разделения наиболее точно описывается *удельным удерживаемым объемом* (приложение I). Эта величина представляет собой объем газа-носителя (приведенный к 0°C), требующийся для переноса этого вещества сквозь хроматографическую колонку. При вычислении ее учитывают температуру колонки, скорость потока газа-носителя, перепад давлений на колонке и количество находящейся в ней неподвижной жидкой фазы. Ввиду того что некоторые из этих параметров не всегда известны, а другие (такие, как количество неподвижной жидкой фазы в колонке) могут изменяться от анализа к анализу, удельный удерживаемый объем — величина, неудобная для практической работы. Большинство хроматографистов-практиков предпочитают работать с *относительными характеристиками удерживания*, выражая удерживание данного анализируемого вещества относительно удерживания некоторого стандартного вещества.

Хорошо известно, что для членов гомологического ряда в изотермических условиях график зависимости логарифма исправленного времени удерживания от молекулярной массы вещества имеет вид прямой. Этот факт широко используют, и на нем основаны системы индексов удерживания, обсуждение которых будет проведено в дальнейшем.

7.2. ВЫЧИСЛЕНИЕ МЕРТВОГО ВРЕМЕНИ

Петерсон и Хирш [1] удачно использовали отмеченный выше факт и разработали способ вычисления величины t_M . Этот способ особенно полезен тем, что практически во всех методиках определения характеристик удерживания используют исправленные времена удерживания, для вычисления которых необходимо знать величину t_M . Согласно способу Петерсона и Хирша, в колонку вводят смесь трех членов гомологического ряда X, Y и Z, такие, что различия в длинах цепи молекул Y и X, а также Z и Y одинаковы. Величину t_M вычисляют по формуле

$$t_M = \frac{(t_{R(Y)})^2 - (t_{R(X)}t_{R(Z)})}{2t_{R(Y)} - (t_{R(X)} + t_{R(Z)})} \quad (7.1)$$

Хакен и сотр. [2] отмечали, что даже небольшие ошибки в определении t_M могут оказать существенное влияние на величины индексов удерживания. Сравнив несколько способов определения этой величины, они установили, что в применении к углеводородам метод наименьших квадратов обеспечивал ту же точность результатов, что и итеративные методы. В работе автора наиболее удовлетворительным оказался предложенный Рийксом [3] способ определения по переднему фронту хроматографического пика метана.

7.3. СИСТЕМА ИНДЕКСОВ УДЕРЖИВАНИЯ КОВАЧА

Система индексов удерживания, предложенная Ковачем [4], получила наибольшее распространение по сравнению с другими системами. По этой системе любому соединению ставится в соответствие гипотетический нормальный углеводород, обладающий аналогичными хроматографическими свойствами и содержащий некоторое промежуточное число атомов углерода. По определению (приложение I) индекс I_A

соединения A вычисляется по формуле

$$I_A = 100N + 100n \frac{\lg V'_{R(A)} - \lg V'_{R(N)}}{\lg V'_{R(N+n)} - \lg V'_{R(N)}}, \quad (7.2)$$

где $V'_{R(N+n)}$ и $V'_{R(N)}$ — исправленные удерживаемые объемы углеводородов с $N+n$ и N атомами углерода в молекуле соответственно, такие, что значение исправленного времени удерживания соединения A $V'_{R(A)}$ находится в промежутке между $V'_{R(N)}$ и $V'_{R(N+n)}$.

Ввиду того что на практике трудно работать с удерживаемыми объемами и, кроме того, важно учитывать природу используемой неподвижной жидкой фазы и температуру анализа, большинство исследователей пользуются измерениями времен удерживания и вычисляют значения индексов удерживания по формуле

$$I_b^a = 100N + 100n \frac{\lg t'_{R(A)} - \lg t'_{R(N)}}{\lg t'_{R(N+n)} - \lg t'_{R(N)}}, \quad (7.3)$$

где I_b^a — индекс удерживания на неподвижной жидкой фазе a при температуре b , а исправленные времена удерживания соответствуют удерживаемым объемам в формуле (7.2). Как правило, лучше так выбирать стандартные углеводороды, чтобы n было равно 1. По определению индекс удерживания углеводорода равен $100N$ независимо от природы неподвижной жидкой фазы; так, для гексана $I = 600$, а для декана $I = 1000$. Недавно было опубликовано хорошее изложение системы Ковача [5].

7.4. ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ИНДЕКСЫ УДЕРЖИВАНИЯ

За исключением соединений с большой молекулярной массой и при высоких температурах, влияние температуры на индексы удерживания не слишком велико для большинства функциональных групп на большинстве неподвижных жидких фаз. Иными словами, изменения температуры одинаково влияют на

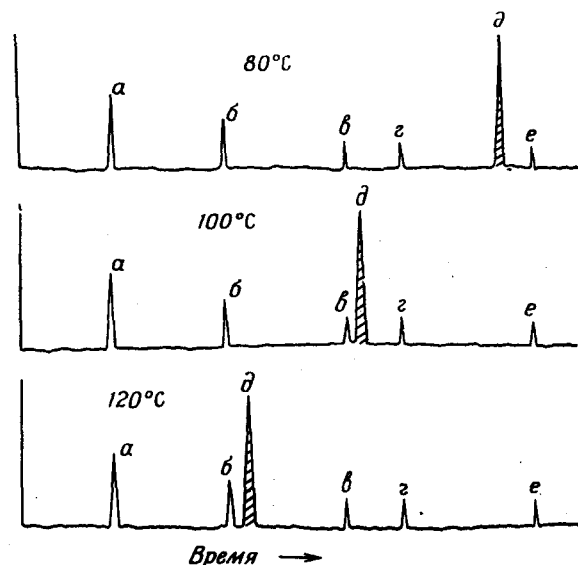


РИС. 7.1. Влияние температуры колонки на величины относительного удерживания и порядок элюирования компонентов.

а — пентилацетат; б — изобутил-2-метилбутаноат; в — метилгексаноат; г — 3,2-метилбутилпропионат; д — метилбутанол; е — бутилбутират. Неподвижная жидкая фаза — карбовакс 20 М.

величину коэффициента распределения большинства соединений. Это влияние особенно мало, когда анализируемое и стандартное соединения имеют аналогичные функциональные группы. Что касается соединений средней молекулярной массы, то наибольшие расхождения в зависимостях от температуры наблюдаются между высокополярными соединениями (например, спирты) и углеводородами. При разделении смесей соединений с разными функциональными группами на полярной неподвижной жидкой фазе при различных температурах могут наблюдаться разные последовательности выхода разделенных соединений [6] (рис. 7.1). Изучая влияние температуры на индексы удерживания Ковача, Эттре [7] установил, что с повышением температуры величины индексов удерживания изменяются по гиперболическому закону.

Однако в интервале температур, равном $\sim 50^\circ\text{C}$, эта зависимость примерно линейна и может быть описана в виде

$$\Delta I/10^\circ\text{C} = \frac{I_{T_2} - I_{T_1}}{(T_2 - T_1)/10} \quad (7.4)$$

где $\Delta I/10^\circ\text{C}$ — прирост индекса удерживания, соответствующий изменению температуры на 10°C , T_2 и T_1 — верхняя и нижняя границы рассматриваемого интервала температур.

С другой стороны, значения индексов удерживания высокомолекулярных соединений, таких, как стеролы, могут заметно изменяться в зависимости от температуры. Для таких соединений могут наблюдаться значения $\Delta I/10^\circ\text{C}$ выше 30. Зависимость индексов удерживания от температуры наблюдал Мёллер [8], анализировавший такие высокомолекулярные соединения, как лекарственные препараты и соединения биологического происхождения. Различия в результатах, полученных в разных лабораториях, были существенно меньше, если измерения вели при одних и тех же температурах. Исходя из этого, Мёллер предложил стандартизовать температуру для определения индексов удерживания лекарственных веществ и неизвестных веществ в пробах биологического происхождения на неподвижных жидких фазах OV 1 и OV 17.

7.5. ДРУГИЕ СИСТЕМЫ ДЛЯ ОПИСАНИЯ ХАРАКТЕРИСТИК УДЕРЖИВАНИЯ

Как отмечал Гоблер [9], система индексов удерживания Ковача не всегда удовлетворительна при анализе полярных соединений на полярных неподвижных жидких фазах, поскольку для ее использования требуются углеводороды с необычно большой молекулярной массой. Наличие такой проблемы привело к разработке нескольких других способов описания характеристик удерживания соединений. Мийва и сотр. [10], а также Вудфорд и ван Гент [11]

предложили использовать в качестве стандартных соединений метиловые эфиры линейных насыщенных жирных кислот. За исключением выбора стандартных соединений, эта система совершенно аналогична системе индексов удерживания Ковача; получаемые в этом случае данные выражаются в виде эквивалентной длины цепи (ЭДЦ) гипотетического метилового эфира жирной кислоты, имеющего тот же индекс удерживания, что и анализируемое соединение. Были предложены система углеродных чисел, опирающаяся на метилкетоны в качестве стандартных соединений [12], система, в которой в качестве стандартных соединений используются этиловые эфиры [13], а также системы с другими стандартными соединениями [14]*.

* Известные относительные величины удерживания можно представить как частный случай выражения

$$R_i = P \left(K + \frac{r_i - r_m}{r_n - r_m} \right),$$

где R — относительная величина удерживания; P , K — постоянные для данной системы единиц удерживания; r_i , r_m , r_n — исправленные величины удерживания i -го соединения и m -го и n -го стандартных веществ. В таблице приведены известные относительные величины удерживания как частные случаи приведенного выше уравнения.

Относительные величины удерживания

Величины удерживания	Параметры уравнения				Расчетные формулы
	P	K	r_m	r_n	
Относительный удерживаемый объем	1	0	0	r_s	$R_{i,s} = r_i / r_s$
Индекс удерживания	100	Z	$\lg r_z$	$\lg r_{z+1}$	$I = 100Z + 100 \frac{\lg r_i - \lg r_z}{\lg r_{z+1} - \lg r_z}$
Арифметический индекс	100	Z	r_z	r_{z+1}	$A = 100z + 100 \frac{r_i - r_z}{r_{z+1} - r_z}$
Относительный индекс	1	100Z	0	r_z	$r_{i,z} = 100z + \frac{r_i}{r_z}$
Показатель удерживания	100	1	r_A	r_B	$P_{A,B} = 100 + 100 \frac{r_i - r_A}{r_B - r_A}$

— Поим. ред.

7.6. ДАННЫЕ УДЕРЖИВАНИЯ КАК КРИТЕРИИ ИДЕНТИФИКАЦИИ

С самого зарождения газовой хроматографии индексы удерживания использовали в качестве критериев идентификации. О возможности этого говорилось еще в первой работе по газовой хроматографии Джеймса и Мартина [15]. Но в то время было трудно исключить вероятность того, что два соединения будут иметь одинаковые характеристики удерживания на данной хроматографической колонке, и потому надежность таких идентификаций была обычно низкой и не отвечала требованиям науки. Практику добавления в анализируемую смесь небольшого количества известного соединения для проверки, увеличится или нет высота хроматографического пика избранного соединения, едва ли можно считать применением данных удерживания для идентификации. Высокая степень неопределенности, связанная с идентификацией по данным удерживания, объяснялась в основном ограниченной эффективностью газохроматографической колонки; но немалую роль при этом играли и такие факторы, как непостоянство характеристик неподвижной жидкой фазы от партии к партии, реакционная способность твердого носителя, а также ограниченные возможности контроля температуры и скорости потока газа-носителя.

Появление стеклянных капиллярных колонок с неподвижной жидкой фазой на стенках повысило надежность идентификации по данным удерживания. Рийкс [3] провел интенсивное изучение параметров, от которых зависит величина индексов удерживания. Он обнаружил, что при использовании высокоэффективных стеклянных капиллярных колонок и при условии точного контроля за температурой и скоростью газового потока в колонке степень воспроизводимости величин индексов удерживания очень высока. По сообщению Рийкса различия в индексах удерживания, полученных в разных лабораториях, можно довести до 0,02% и менее.

В настоящее время индексы удерживания известны для большого числа соединений; эти данные опубликованы в нескольких изданиях, но большинство этих величин было получено с применением хроматографов с насадочными колонками, нагревательные печи которых контролировали с точностью меньшей, чем это возможно сейчас. Поэтому величины индексов удерживания, получаемые на более точно контролируемых хроматографах со стеклянными колонками типа НС, могут отличаться от опубликованных ранее. Несколько крупных промышленных лабораторий уже накопили богатый материал по индексам удерживания, но эта информация обычно не публикуется. Надежные данные по индексам удерживания начинают появляться в периодической литературе, но этих данных недостаточно, и они рассеяны по разным изданиям*. Рийкс [3] опубликовал индексы удерживания для нескольких изомеров низкомолекулярных углеводов; в работе [16] приведены индексы удерживания для 21 алифатического и 14 гетероциклических серусодержащих соединений, полученные на насадочных стеклянных колонках, содержащих апиезон М, тритон Х 305 и полиэтиленгликоль 1000, при температуре 130°C. В работах Питре и Смита приведены индексы удерживания для металлоорганических соединений [17] и для тетраалкилсиланов [18], а в работе [19] указаны индексы удерживания про-

* Межлабораторная невоспроизводимость данных по удерживанию в значительной мере связана с трудно контролируемыми явлениями адсорбции на поверхности газ — неподвижная жидкая фаза и особенно на поверхности неподвижная жидкая фаза — стенки колонки. Значение этого фактора для капиллярной хроматографии было впервые рассмотрено в работах Березкина В. Г., Фатеевой В. М., Шикаловой И. В. Теория и применение неподвижной фазы в газожидкостной хроматографии. Общество «Знание» УССР, Киев, 1971, с. 59; Рийкс Дж., Лейтен Дж., Березкин В. Г. Ж. анал. хим., 1974, 29, с. 858. В дальнейшем было показано, что хроматографические колонки с различным содержанием неподвижной жидкой фазы, в которых удерживание является результатом растворения и адсорбции хроматографируемых соединений, можно использовать для идентификации различных типов органических соединений (Березкин В. Г., Соляк Л. Collection, 43, 1588 (1978) — на русском языке). — Прим. ред.

дуктов пиролиза алкилбензолов, полученные на стеклянных колонках типа НС с неподвижной жидкой фазой SE 30. В работе [6] приведены индексы удерживания для нескольких соединений, выделенных из веществ, определяющих вкус; эти значения были получены на стеклянных колонках типа НС с неподвижными жидкими фазами карбовакс 20 М и SE 30. Новотны и Златкис [20] опубликовали характеристики удерживания (в метиленовых единицах) для нескольких стероидных триметилсилильных и метоксиметриметилсилильных производных, полученные на стеклянных капиллярных колонках с неподвижными жидкими фазами OV 101 и OV 17.

Может случиться так, что характеристики удерживания двух соединений на данной колонке окажутся идентичными, хотя вероятность этого уменьшается с ростом эффективности колонки. Степень достоверности идентификации соединений по их индексам удерживания можно значительно повысить, если определять эти параметры на двух высокоэффективных колонках разной полярности. Как сообщил Рийкс [3], графическое представление получаемых таким путем данных для изомерных углеводов позволяет выделить четко определенные группы соединений. Аналогичные графики для изомеров приведены на рис. 7.2. На обычных масс-спектрах эфиров такой молекулярной массы (130—200) получается едва различимая линия молекулярного иона (особенно при использовании квадрупольного масс-спектрометра), поэтому графики типа приведенного на рис. 7.2 могут принести большую пользу при определении молекулярных масс. Кроме того, этот способ позволяет получить некоторую информацию о неизвестном компоненте анализируемой смеси по положению соответствующей ему точки относительно точек других компонентов. Так, бутанол и изобутанол характеризуются малыми индексами удерживания на жидкой фазе SE 30 и относительно большими — на жидкой фазе карбовакс 20 М, и на соответствующем графике их линии значительно удалены от линий эфиров. Кроме того, различным гомологическим рядам соответствуют

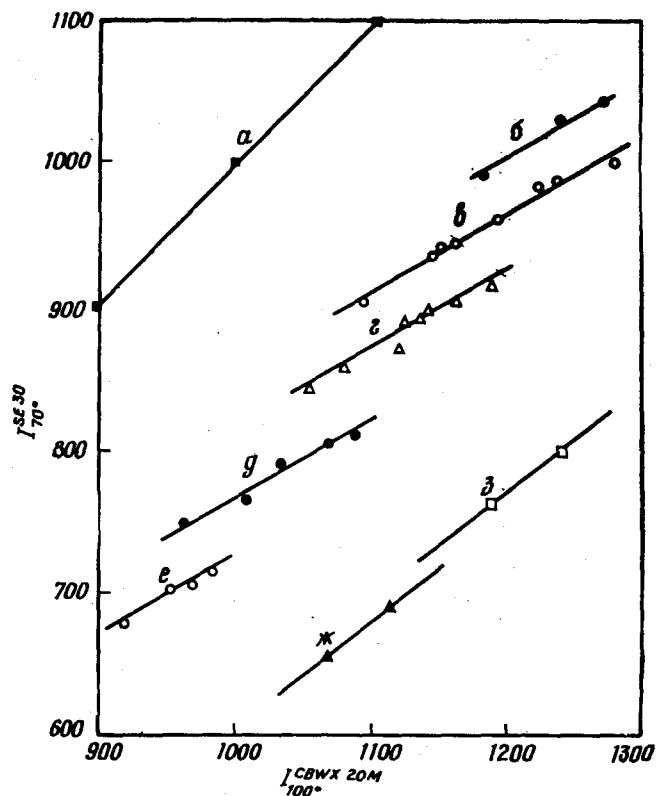


РИС. 7.2. Индексы удерживания на карбоваксе 20 М (горизонтальная ось) и на SE 30 (вертикальная ось).

Заметны распределение соединений по функциональным группам и молекулярной массе, а также близость углов наклона прямых для соединений с аналогичными функциональными группами. (Из работы Yabumoto et al. [6].)

а — линейные углеводороды; б — эфиры ММ-158; в — эфиры ММ-144; г — эфиры ММ-30; д — эфиры ММ-116; е — эфиры ММ-102; ж — спирты ММ-74; з — спирты ММ-88.

практически прямолинейные графики, что объясняется линейной зависимостью между молекулярной массой и логарифмом времени удерживания этих соединений. Интересно также, что для соединений гомологических рядов приращение логарифма времени удерживания, соответствующее одной метиленовой группе, почти

такое же, что и для *n*-алканов (т. е. 100 единиц по шкале индексов удерживания). Графиками такого типа пользовались несколько исследователей [21—23].

Литература

1. Peterson M. L., Hirsch J., J. Lipid Res., 1, 132 (1959).
2. Haken J. K., Wainwright M. S., Smith R. J., J. Chromatogr., 133, 1 (1977).
3. Rijks J. A., Doctoral Thesis, Tech. Univ. Eindhoven, The Netherlands, 1973.
4. Kováts E., Adv. Chromatogr., 1, 229 (1965).
5. Ettre L. S., Chromatographia, 6, 489 (1973); 7, 39 (1974).
6. Yabumoto K., Jennings W. G., Yamaguchi M., Anal. Biochem. 78, 244 (1977).
7. Ettre L. S., Anal. Chem., 36, (8), 31A (1964).
8. Möller M. R., Chromatographia, 9, 311 (1976).
9. Göbber A., J. Chromatogr. Sci., 10, 128 (1972).
10. Miwa T. K., Micolajczak K. L., Earle F. R., Wolff I. A., Anal. Chem., 32, 1739 (1960).
11. Woodford E. P., van Gent C. M., Lipid Res., 1, 88 (1960).
12. Ackman R. G., J. Chromatogr. Sci., 10, 535 (1972).
13. Van den Dool H., Kratz P. D., J. Chromatogr., 11, 463 (1963).
14. Novák J., Ruzickova J., J. Chromatogr., 91, 79 (1974).
15. James A. T., Martin A. J. P., Biochem. J., 50, 679 (1952).
16. Golornya R. V., Garbuzov V. G., Chromatographia, 8, 265 (1975).
17. Peetre I. B., Smith B. E. F., J. Chromatogr., 89, 311 (1974).
18. Peetre I. B., Smith B. E. F., J. Chromatogr., 90, 41 (1974).
19. Svob V., Deur-Siftax D., J. Chromatogr., 91, 677 (1974).
20. Novotny M., Zlatkis A., J. Chromatogr. Sci., 8, 346 (1970).
21. Tourres D. A., J. Chromatogr., 30, 357 (1967).
22. Walraven J. J., Doctoral Thesis, Tech. Univ. Eindhoven, The Netherlands, 1968.
23. Kaiser R. E., J. Chromatogr. Sci., 12, 36 (1974).

Глава 8

ПРОГРАММИРОВАНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ КОЛОНКИ И ЗАМЕЧАНИЯ О ПОТОКЕ ГАЗА-НОСИТЕЛЯ

8.1. ОБЩИЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Рабочая температура колонки, природа и скорость потока газа-носителя — взаимосвязанные факторы, оказывающие значительное влияние на эффективность и продолжительность разделения. На практике эти факторы обычно выбирают, идя на некоторый компромисс, во-первых, поскольку оптимальные значения температуры колонки и скорости потока газа-носителя различны для разных участков колонки, т. е. зависят от величины k , и, во-вторых, поскольку разделение при оптимальных температуре колонки и скорости потока газа-носителя может оказаться слишком продолжительным. Для выбора приемлемых величин этих параметров может потребоваться длительное экспериментирование.

За некоторыми исключениями (см. далее), смеси соединений, кипящих в узком интервале температур, можно анализировать в изотермических условиях, при которых колонка обладает, как правило, наибольшей эффективностью. Если же интервал температур кипения компонентов смеси широкий, то обычно приходится программировать температуру колонки. При слишком низкой температуре колонки высококипящие соединения (характеризующиеся большими значениями k или K_D) медленно перемещаются в колонке по направлению к детектору, поскольку мала их равновесная концентрация в подвижной газовой фазе. С повышением температуры колонки возрастают значения k (и K_D) всех соединений, возрастают равновесные концентрации в газовой фазе всех компонентов смеси и в результате получаются более вы-

сокие и более узкие хроматографические пики, однако степень разделения соединений ухудшается. Основное достоинство программирования температуры колонки заключается в том, что оно позволяет воспользоваться преимуществом больших значений K_D при малых температурах, обеспечивающих лучшее разделение компонентов, а затем, когда компонент окажется ближе к концу колонки, оно позволяет уменьшить величину K_D настолько, что компонент выходит из колонки в детектор в виде узкой концентрированной хроматографической зоны. Еще одно преимущество программирования температуры в том, что оно позволяет значительно сократить продолжительность разделения.

8.2. ПРОБЛЕМЫ, ХАРАКТЕРНЫЕ ДЛЯ КАПИЛЛЯРНЫХ СИСТЕМ

Программирование не лишено и недостатков: разделяемые компоненты подвергаются, хотя и непродолжительно, действию высоких температур, и не полностью реализуется потенциальная эффективность колонки (см. далее). Частично это связано с тем, что в ходе температурного программирования величины относительно удерживания соединений с близкими свойствами приближаются к единице, а также с тем, что с изменением температуры колонки изменяется линейная скорость потока газа-носителя. Насадочные колонки работают с относительно большими объемами газа-носителя, и их можно оборудовать регуляторами, поддерживающими постоянную скорость потока в ходе программирования температуры. Открытые колонки работают при гораздо меньших скоростях потока, и, кроме того, регулирование скорости потока может усложниться еще и тем, что часть потока газа-носителя выводится в атмосферу в делителе потока на входе в колонку. По этим причинам открытые колонки обычно работают при постоянном перепаде давлений и средняя линейная скорость газового

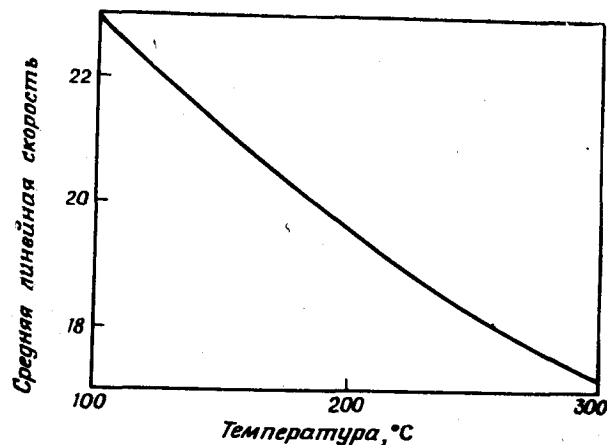


РИС. 8.1. Влияние температуры на среднюю линейную скорость потока газа-носителя для типичной стеклянной колонки типа ОНС размерами 0,25 мм $\times$ 50 м при перепаде давлений 1 атм.

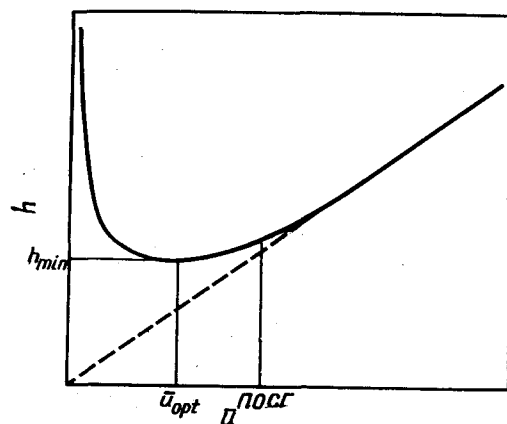


РИС. 8.2. Типичная кривая Ван-Деемтера, из которой видны оптимальная скорость u_{opt} и практически оптимальная скорость газового потока (ПОСГ).

Последнюю определяют [3] как скорость, при которой вклад молекулярной диффузии в полную величину h (площадь под пунктирной линией) составляет менее 10%.

потока $\bar{u}$ меняется с изменением температуры колонки (рис. 8.1).

Для проведения трудных разделений можно рекомендовать такой перепад давлений на колонке, чтобы скорость потока газа в ней была оптимальной в течение наиболее важного этапа разделения. Приближенно эти условия можно определить следующим образом. Допустим, что температура колонки программируется от 50 до 250 °C и одна пара трудноразделимых компонентов характеризуется температурой выхода из колонки (температурой элюирования T_E , см. приложение 1), равной 180 °C.

Согласно Гиддингсу [1], рассматриваемые соединения при температуре 150 °C (T_E — 30 °C) находились примерно в середине колонки, а при температуре 120 °C — на расстоянии примерно одной четверти длины колонки от ее входа. Желательно, чтобы эффективность колонки была максимальной, т. е. была оптимальной скоростью потока газа-носителя, именно в этот период, а не раньше, когда соединения едва продвигаются вдоль колонки, и не позже, когда они уже вышли из колонки. Вследствие асимметричности кривой Ван-Деемтера (рис. 8.2) скорости, превышающие оптимальную величину и наблюдающиеся при низких температурах (рис. 8.1), будут в меньшей степени влиять на эффективность колонки, чем скорости ниже оптимальной величины (предполагая, что величины обоих отклонений одинаковыми по абсолютной величине), наблюдающиеся при высоких температурах. В качестве первого приближения можно установить температуру колонки около 170 °C и подобрать перепад давлений, обеспечивающий оптимальную скорость потока газа при этих условиях. При этом жертвуют эффективностью, особенно на последнем этапе разделения, но обеспечивают ее максимум там, где это требуется. Если особенно важного этапа в процессе разделения нет, то рекомендуется обеспечить оптимальную скорость потока газа-носителя на последнем этапе программирования температуры колонки с тем, чтобы в течение большей части цикла разделения работать при скорости потока большей,

а не меньшей оптимальной величины. Программирование давления — метод, который для насадочных колонок уже в значительной мере устарел из-за распространения эффективных регуляторов скорости потока, — может найти более широкое применение при работе с незаполненными колонками. Простой способ программирования газового потока в стеклянных капиллярных колонках путем постепенного ограничения выхода газа из делителя потока предложили Нигрен и Маттссон [2].

8.3. ПРАКТИЧЕСКИ ОПТИМАЛЬНАЯ СКОРОСТЬ ГАЗОВОГО ПОТОКА

Дополнительные соображения появляются при рассмотрении взаимосвязи температуры колонки и скорости потока газа в ней. Коэффициент C в уравнении Голя (1.19), отражающий сопротивление массопереносу, представляет собой сумму сопротивлений массопереносу из газовой фазы в жидкую (C_G) и из жидкой фазы в газовую (C_L):

$$h = B/\bar{u} + C_G\bar{u} + C_L\bar{u}. \quad (8.1)$$

Скотт [3] определил практически оптимальную скорость газового потока (ПОСГ) как скорость, соответствующую точке перехода между криволинейным и прямолинейным участками кривой Ван-Деемтера (рис. 8.2). Он полагает, что для практических целей эту точку можно считать точкой, в которой величина первого слагаемого в уравнении (8.1), характеризующая продольную диффузию, составляет менее 10% полной величины h . Начиная с этой точки, величина h является в основном функцией двух последних слагаемых. Коэффициенты C в этих слагаемых зависят от квадрата радиуса колонки, и этим главным образом объясняется огромное превосходство колонок малого диаметра, работающих при скоростях газового потока, равных или больших ПОСГ. Ввиду того что массопередача зависит и от температуры колонки,

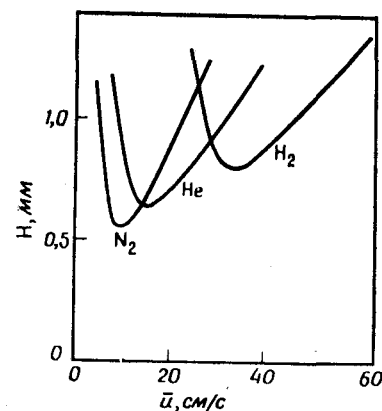


РИС. 8.3. Кривые Ван-Деемтера для колонки типа ОНС размерами 0,25 мм×28 м с неподвижной жидкой фазой карбовакс 20 М при использовании различных газов-носителей. Для стандартного соединения $k = 3$.

Азот: $\bar{u}_{\text{opt}} = 9,5 \text{ см} \cdot \text{с}^{-1}$

$n = 88\ 900$	$n/m = 3180$	$h = 0,31 \text{ мм}$
$N = 50\ 000$	$N/m = 1790$	$H = 0,56 \text{ мм}$

Гелий: $\bar{u}_{\text{opt}} = 16 \text{ см} \cdot \text{с}^{-1}$

$n = 77\ 800$	$n/m = 2780$	$h = 0,36 \text{ мм}$
$N = 43\ 750$	$N/m = 1560$	$H = 0,64 \text{ мм}$

Водород: $\bar{u}_{\text{opt}} = 34 \text{ см} \cdot \text{с}^{-1}$

$n = 62\ 200$	$n/m = 2200$	$h = 0,45 \text{ мм}$
$N = 35\ 000$	$N/m = 1250$	$H = 0,80 \text{ мм}$

можно предсказать, что при таких скоростях потока эффективность колонки будет выше (меньшие значения h) при более высоких температурах. Скотт [3] утверждает, что для любой пары компонентов на любой колонке существует оптимальная температура, при которой наблюдается наилучшее разделение, но эту температуру экспериментально можно, по-видимому, определить более точно, чем путем вычислений.

Эти же соображения помогают и в выборе газа-носителя. Для колонок, работающих при скоростях потока ниже ПОСГ (например, при u_{opt}), определяю-

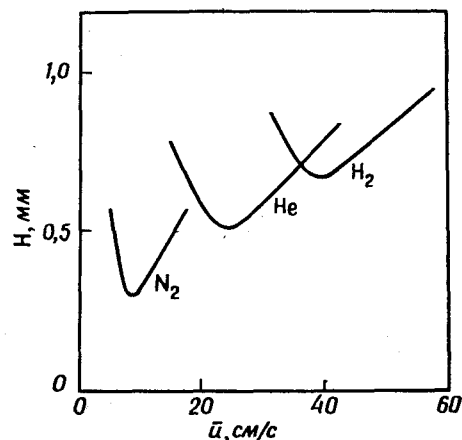


РИС. 8.4. Кривые Ван-Деемтера для колонки типа ОНС размерами $0,25 \text{ мм} \times 47 \text{ м}$ с неподвижной жидкой фазой SE 30 при использовании разных газов-носителей. Для стандартного соединения $k=5$.

Азот: $\bar{u}_{\text{opt}}=9 \text{ см} \cdot \text{с}^{-1}$

$n=233\ 600$	$n/m=4960$	$h=0,20 \text{ мм}$
$N=162\ 100$	$N/m=3500$	$H=0,29 \text{ мм}$

Гелий: $\bar{u}_{\text{opt}}=25 \text{ см} \cdot \text{с}^{-1}$

$n=135\ 000$	$n/m=2900$	$h=0,35 \text{ мм}$
$N=94\ 000$	$N/m=2000$	$H=0,50 \text{ мм}$

Водород: $\bar{u}_{\text{opt}}=40 \text{ см} \cdot \text{с}^{-1}$

$n=99\ 500$	$n/m=2100$	$h=0,47 \text{ мм}$
$N=69\ 100$	$N/m=1470$	$H=0,68 \text{ мм}$

щим является член B/u , и лучшие результаты получаются при использовании газа-носителя высокой плотности (характеризующегося меньшей константой диффузии). Если колонка работает при скоростях потока выше ПОСГ, член C_{0u} важнее члена B/u , и лучшие результаты дают газы-носители малой плотности. На практике значительную экономию времени без больших потерь эффективности разделения дает применение газа-носителя малой плотности при линейных скоростях потока, равных или выше ПОСГ. Несмотря на то что большинство практических на-

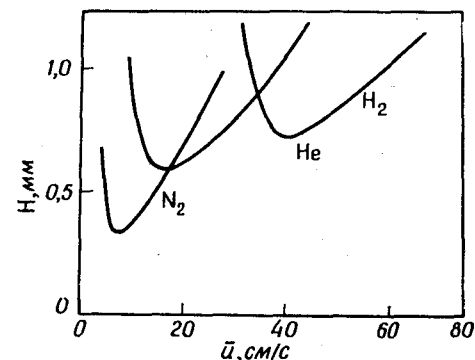


РИС. 8.5. Кривые Ван-Деемтера для колонки типа ОНС размерами $0,25 \text{ мм} \times 48 \text{ м}$ с неподвижной жидкой фазой SP 2250 при использовании разных газов-носителей. Для стандартного соединения $k=7$.

Азот: $\bar{u}_{\text{opt}}=8 \text{ см} \cdot \text{с}^{-1}$

$n=183\ 000$	$n/m=3800$	$h=0,26 \text{ мм}$
$N=140\ 000$	$N/m=2900$	$H=0,34 \text{ мм}$

Гелий: $\bar{u}_{\text{opt}}=17 \text{ см} \cdot \text{с}^{-1}$

$n=106\ 300$	$n/m=2200$	$h=0,45 \text{ мм}$
$N=81\ 300$	$N/m=1700$	$H=0,59 \text{ мм}$

Водород: $\bar{u}_{\text{opt}}=40 \text{ см} \cdot \text{с}^{-1}$

$n=87\ 600$	$n/m=1830$	$h=0,55 \text{ мм}$
$N=67\ 000$	$N/m=1400$	$H=0,72 \text{ мм}$

блюдений согласуются с этими выводами, имеются работы [4], в которых сообщается о получении гораздо больших эффективностей (по числу теоретических тарелок) при использовании гелия, чем при использовании азота или аргона в качестве газа-носителя*; однако в большинстве подобных случаев обычно выяснялось, что колонки работали при скоростях газового потока, значительно превышающих оптимальные величины. На рис. 8.3—8.5 приведены

* Применение аммиака в качестве газа-носителя позволяет уменьшить градиент давления, уменьшить H_{min} , а также улучшить другие хроматографические и эксплуатационные характеристики [Ilkova E. L., Mistoycekov E. A., J. Chromatogr., 54, 422 (1971); Berezkin V. G., Shkolina L. A., J. Chromatogr., 119, 33 (1976)]. — Прим. ред.

экспериментально полученные графики Ван-Деемтера для нескольких разных колонок, работавших при различных скоростях потока газа-носителя.

8.4. ЗАВИСИМОСТЬ ТЕМПЕРАТУРЫ ЭЛЮИРОВАНИЯ И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ АНАЛИЗА ОТ СКОРОСТИ ПРОГРАММИРОВАНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ КОЛОНКИ И СКОРОСТИ ПОТОКА ГАЗА-НОСИТЕЛЯ

Еще два параметра сильно зависят от характера программирования температуры и от скорости газового потока: температура элюирования соединений

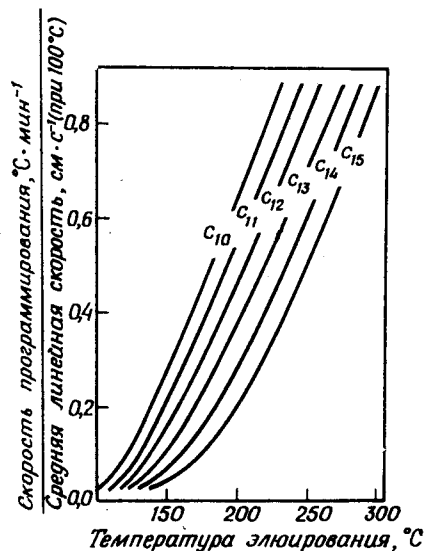


РИС. 8.6. Графики зависимости отношения скорости программирования температуры к средней линейной скорости газового потока от температуры элюирования для линейных углеводородов.

По графикам этого типа, зная индекс удерживания соединения, можно предсказать температуру элюирования, продолжительность анализа при заданных скоростях программирования температуры и газового потока.

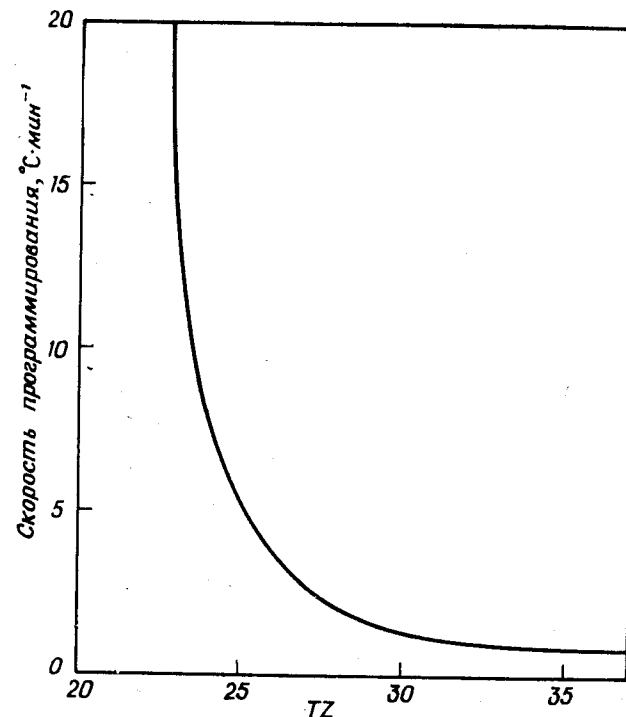


РИС. 8.7. Влияние программирования температуры на эффективность колонки; колонка типа ОНС размерами 0,25 мм × 40 м с неподвижной жидкой фазой карбовакс 20 М. Стандартные соединения: *n*-гептанол и *n*-октанол. Температуру программировали от 70 до 170 °C.

и продолжительность разделения. Как обнаружили Хэбгуд и Харрис [5], если построить графики зависимости отношения скорости программирования температуры K_p к скорости газового потока F от температуры элюирования T_E , то получаются кривые, форма которых определяется в основном характеристиками удерживания соответствующих соединений. Эту же работу проделали для стеклянных колонок типа ОНС [6] и получили графики типа показанных на рис. 8.6. Поскольку эти графики были построены по

данным для нормальных углеводородов, то по системе индексов удерживания Ковача нетрудно определить температуру элюирования и продолжительность анализа на этой колонке и при этих условиях для любого другого соединения.

Рис. 8.7 показывает влияние программирования температуры колонки на ее эффективность (число разделений). Ясно, что при малых скоростях программирования достигаются гораздо большие эффективности.

Давление в колонке тоже влияет на ее эффективность (см. также гл. 6). Дести и сотр. [6] установили, что при одном и том же перепаде давлений на колонке, но при различных давлениях (например, перепады от 10 до 9 и от 1 до 0 атм) получаются, как и следовало ожидать, разные значения членов B/u , C_{Gi} и C_{Li} . При давлении в колонке 10 атм h_{min} падает примерно до 55% значения при давлении 1 атм, но крутизна кривой Ван-Деемтера становится гораздо большей. Ввиду того что при изменении k изменяется и u_{opt} , при более высоких давлениях высокая эффективность разделения обеспечивается лишь для более узкого класса соединений. Другие недостатки работы при повышенных давлениях включают дополнительные экспериментальные трудности и увеличение продолжительности анализа, связанное с уменьшением u_{opt} .

Литература

1. Giddings J. C., J. Chem. Educ., **39**, 569 (1962).
2. Nygren S., Mattsson P. E., J. Chromatogr., **129**, 101 (1976).
3. Scott R. P. W., in «Gas Chromatography» (Proc. Int. Symp., 3rd 1960) (R. P. W. Scott, ed.), p. 144. Butterworths, London, 1960.
4. Mayzaud P., Ackman R. G., Chromatographia, **9**, 7 (1976).
5. Habgood H. W., Harris W. E., Anal. Chem., **32**, 450 (1960).
6. Desty D. H., Goldup A., Whyman B. H. F., J. Inst. Pet. London, **45**, 287 (1959).

Глава 9

СТАБИЛЬНОСТЬ КОЛОНКИ

9.1. ОБЩИЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Тизон и сотр. [1] определили срок службы колонки как время, по истечении которого в колонке остается лишь половина первоначального количества неподвижной жидкой фазы. Они пришли к выводу, что срок службы колонки зависит от ее рабочей температуры, а также от таких факторов, как концентрация кислорода и воды в газе-носителе и природа твердого носителя. Срок службы открытой колонки связан со степенью сцепления (взаимодействия) между пленкой неподвижной жидкой фазы и стеклянной поверхностью, на которую она нанесена. Пока жидкая фаза удерживается в колонке в форме тонкой пленки, равномерно распределенной по стенкам, колонка работает с хорошей эффективностью. Как только жидкая фаза отслаивается от стенок колонки и образует отдельные пятна, эффективность колонки резко падает (рис. 9.1—9.3). Иногда выходят из строя лишь один или два витка спиральной колонки, чаще всего у ее начала. Если эту часть колонки удалить, то ее эффективность восстанавливается, причем то, что колонка при этом стала короче, обычно не имеет значения. Понимание взаимосвязи факторов, приводящих к разрушению пленки неподвижной жидкой фазы, может помочь продлить срок службы колонки.

Большой объем исследований в области моющих средств был связан с проблемой нанесения тонких пленок на твердые поверхности и удаления их с твердых поверхностей; при этом несколько исследователей изучали энергетические взаимодействия между

пленкой и поверхностью. Результаты многих подобных исследований, имеющих отношение к технологии изготовления стеклянных колонок типа ОНС, рассмотрены в обзоре [2].

Практически можно выделить две группы сил, имеющих отношение к рассматриваемой проблеме: силы притяжения между неподвижной жидкой фазой и стеклянной поверхностью и силы другой группы, которые по отношению к стеклянной поверхности можно назвать силами отталкивания, причем наиболее важными из них являются, по-видимому, силы внутреннего взаимодействия в самой жидкой фазе. При образовании шариков или капель жидкой фазы площадь ее поверхности и поверхностная энергия уменьшаются, и поэтому, конечно, такое состояние жидкой фазы более устойчиво. До тех пор пока преобладают силы притяжения, жидкая фаза остается в форме тонкой пленки. Если же эти силы перестают

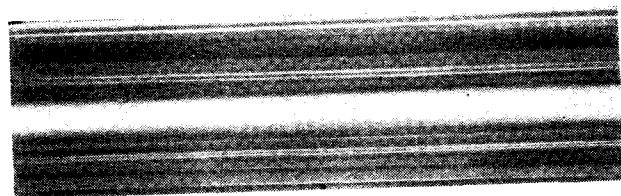


РИС. 9.1. Хорошая пленка неподвижной жидкой фазы — гладкая и равномерная по толщине.

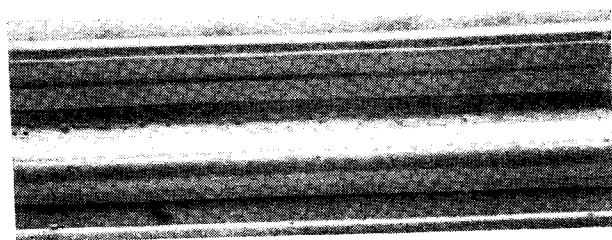


РИС. 9.2. Начало разрушения пленки неподвижной жидкой фазы. В пленке заметны неоднородности.

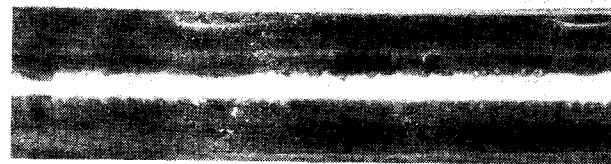


РИС. 9.3. Испорченная колонка. Ясно видны сгустки неподвижной жидкой фазы.

доминировать, то жидкая фаза отслаивается от поверхности и стягивается в шарики или капли. Основную роль при этом играют два фактора: температура колонки и попадание на поверхность материалов, которые адсорбируются ею сильнее, чем жидкая фаза.

Сопротивление пленки неподвижной жидкой фазы воздействию высоких температур определяется, по-видимому, и технологией изготовления колонки, т. е. способом нанесения жидкой фазы на ее стенки. От этого способа зависит прочность контакта жидкой фазы с поверхностью, а также то, нанесена ли она действительно на стекло, на гидратированную поверхность стекла или на промежуточный слой кристаллов соли.

9.2. ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ КОЛОНКИ

Колонки с неподвижной полиэтиленгликольной жидкой фазой карбовакс 20 М, нанесенной модифицированным статическим способом с применением нагреваемой входной трубки, могут служить неопределенно долго, если их правильно эксплуатировать (см. ниже) при температурах, не превышающих 150°C. При рабочей температуре 170°C такая колонка может служить около 6 мес; при 180°C этот срок может сократиться до 1—2 мес, а рабочую температуру 200°C эта колонка редко выдерживает в течение более 2 дней. Имеются сообщения о том, что

такие колонки выдерживали постоянную эксплуатацию при температуре 275°C, если предварительно их в течение некоторого времени эксплуатировали при умеренных температурах, однако весьма сомнительно, чтобы при этом в колонке сохранялась исходная неподвижная фаза карбовакс 20 М. Более вероятно, что под воздействием некоторых анализируемых материалов в колонке произошла перегруппировка исходной неподвижной жидкой фазы с образованием нового полимера. Недавно в продаже появились колонки с жидкой фазой карбовакс 20 М, которые, согласно их паспортным данным, стабильны при температурах вплоть до 220°C.

Несколько других неподвижных жидких фаз — метилсиликон SE 30 и OV 101, а также 50%-ная смесь фенилсиликона SP 2250 и OV 17 — выдерживают температуры до 300°C и кратковременное воздействие еще более высоких температур. Диапазон температур для жидкой фазы SP 1000 или FFAP ограничен 200°C. Колонки, изготовленные другими способами, вряд ли обладают столь же высокой сопротивляемостью к воздействию высоких температур, и во всех случаях меньшие температуры способствуют продлению срока службы колонки. Изучив влияние темпе-

Таблица 9.1

Жидкая фаза	По данным фирмы — поставщика	Практический предел для стеклянных капилляров	Практический предел для систем ГХ/МС
SF 96	250	200	175
OV 101	350	300	190
DC 200	250	200	175
PPG	150	140	95
FFAP	250	200	180
Карбовакс 4000	200	160	160
Сквалан	100	100	85
Дексил 300	500	300	165

^a Из работы Шомберга и сотр. [3]

ратуры на колонки типа НС, Шомберг [3] получил данные, приведенные в табл. 9.1. По-видимому, эти данные определяют диапазон температур для «нормальной» работы колонки; большинство же из рассматриваемых в таблице колонок могут выдерживать кратковременное воздействие и более высоких температур.

9.3. ВЛИЯНИЕ ВЕЛИЧИНЫ АНАЛИЗИРУЕМОЙ ПРОБЫ И ЕЕ СОСТАВА

Другой важный и связанный с остальными фактор, определяющий срок службы колонки, — тип анализируемых материалов. Большие пробы могут смыть некоторое количество неподвижной жидкой фазы со стенок колонки; сильно адсорбирующиеся материалы, такие, как вода или спирты, если они проникнут сквозь неподвижную жидкую фазу к стеклянной поверхности, будут сильнее адсорбироваться этой поверхностью и вытеснять с нее неподвижную жидкую фазу. Очень эффективно вытесняют неподвижную жидкую фазу определенные растворители, например дисульфид углерода CS₂. Вредное влияние на колонку, особенно с такими жидкими фазами, как карбовакс 20 М, оказывают малые примеси влаги в газе-носителе; с другой стороны, неподвижная жидкая фаза SE 30 менее проницаема для воды, в связи с чем воде труднее достигнуть стеклянной поверхности, на которой она могла бы адсорбироваться и тем самым уменьшить силы притяжения, удерживающие жидкую фазу на поверхности. Весьма возможно, что существует определенная взаимосвязь между этими явлениями. При более высоких температурах разрушительное действие дисульфида углерода гораздо сильнее, чем при низких. Повышенная термическая стабильность, которой, как сообщалось, обладают колонки, содержащие силанокс 101, введенный в колонку либо до нанесения неподвижной жидкой фазы, либо в виде добавки к раствору неподвижной жидкой

фазы, можно объяснить гидрофобностью двуокиси кремния, а также изменением величины краевого угла [4].

По наблюдениям некоторых исследователей, колонки, постоянно поддерживаемые при рабочей температуре, служат дольше тех, которые часто охлаждаются и нагревают; автор не наблюдал это явление у себя в лаборатории, но принимает все меры к тому, чтобы газ-носитель был сухим. Вполне возможно, что при пропускании газа-носителя через холодную колонку примеси, такие, как вода, насыщают неподвижную жидкую фазу, что может привести к отслоению ее от стенок колонки. Колонки сохраняются лучше, если их заполнить сухим инертным газом и запаять в пламени горелки.

9.4. ВОССТАНОВЛЕНИЕ КОЛОНОК

Максимальный срок службы колонки обеспечить достаточно просто: нужно следить за величиной и составом анализируемых проб, стараться уменьшить максимальную рабочую температуру колонки и сократить время, в течение которого колонка находится при этой температуре. Но даже когда колонка уже испорчена настолько, что дальнейшая ее эксплуатация невозможна, иногда можно до некоторой степени восстановить ее работоспособность. Вполне точно установлено, что нанесенную на поверхность пленку жидкости нельзя полностью смыть растворителями, в которых эта жидкость растворима. Слой жидкости остается на поверхности даже после ее промывки турбулентным потоком растворителя [5—7]. Аналогичное явление можно наблюдать и в колонках типа НС; время от времени потерявшие эффективность колонки, неподвижная жидкая фаза в которых стянулась в капли, можно несколько раз промыть растворителем для удаления капель и избытка неподвижной жидкой фазы; иногда после этого в колонке остается очень тонкая пленка неподвижной жидкой фазы, и она может функционировать как высокоэффектив-

ная колонка малой емкости. Об аналогичной идее недавно сообщил Рыба [8]. Чаще всего это явление встречается при работе с силиконовыми неподвижными жидкими фазами, но с ним встречались и при работе с полярными жидкими фазами.

Литература

1. Thizon M., Eon C., Valentin P., Guiochon G., *Anal. Chem.*, **48**, 1861 (1976).
2. Jennings W. G., *Chromatographia*, **8**, 690 (1975).
3. Schomburg G., Husmann H., Weeke F., *J. Chromatogr.*, **99**, 63 (1974).
4. Blumer M., *Anal. Chem.*, **45**, 980 (1973).
5. Anderson R., Satanek J. J., Harris J. C., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **36**, 286 (1959).
6. Bourne M. C., Jennings W. G., *Food Technol.*, **15**, 495 (1961).
7. Bourne M. C., Jennings W. G., *Nature*, **197**, 1003 (1973).
8. Ryba M., *Chromatographia*, **9**, 105 (1976).

Глава 10

ВЫБОР КОЛОНКИ

10.1. ОБЩИЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Выбор неподвижной жидкой фазы для конкретного анализа — непростая задача, и не всегда можно найти правильные пути ее решения. Хроматографист-практик годами накапливает опыт и развивает своего рода «чутье» на выбор неподвижных жидких фаз, которые могли бы обеспечить наилучшее разделение тех или иных конкретных соединений; однако надежность подобного «шестого чувства» оставляет желать лучшего. Столь же ненадежно полагаться на взятые из литературы описания аналогичных разделений; если в какой-либо работе описывается разделение на хроматографической системе малой эффективности (например, на насадочных колонках), то для этих разделений, наверное, выбирали неподвижную фазу, характеризующуюся по возможности большим значением α . При использовании хроматографической системы высокой эффективности гораздо лучшее разделение можно получить с менее удерживающей неподвижной жидкой фазой, обеспечивающей меньшую продолжительность анализа (см. ниже). Для разделения высокомолекулярных соединений, включая большинство летучих производных, можно попытаться вначале использовать неполярные жидкие фазы SE 30 или OV 101; если разделение будет неудовлетворительным, то можно последовательно испытывать все более полярные неподвижные жидкие фазы, не забывая наблюдать за нижней и верхней границами диапазона рабочих температур.

Для первых разделений смеси неизвестного состава автор предпочитает пользоваться очень короткими

(3—4 м) колонками с неподвижной жидкой фазой SE 30. Эти разделения дают хорошую картину полного интервала времен удерживания компонентов смеси, благодаря чему в последующих анализах не остаются незамеченными хроматографические пики высококипящих соединений, которых обычно нет на главной части хроматограммы. Вторую серию разделений автор вел на колонках длиной 12—20 м с неподвижной жидкой фазой карбовакс 20 М. Получаемые при этом результаты служили некоторой основой для выбора наиболее подходящей неподвижной жидкой фазы. Если колонка с карбоваксом 20 М обладает настолько сильным удерживанием, что не все компоненты анализируемой смеси дают достаточно отчетливые хроматографические пики (по сравнению с хроматограммой на жидкой фазе SE 30), то можно рекомендовать выбор менее полярной неподвижной жидкой фазы. В этом случае имеет смысл применить жидкую фазу SP 2250 (или OV 17), для которой характерно меньшее, чем на карбоваксе 20 М, удерживание и которая может выдерживать гораздо большие температуры (см. приложение II). Наконец, для разделения большинства сложных смесей природных веществ следует применять колонки длиной 50—80 м.

Даже выполнив все эти рекомендации, не всегда удается обеспечить полное разделение на одной неподвижной жидкой фазе. Применив высокоэффективные колонки ($n > 250\,000$) для разделения веществ, определяющих запах дыни канталупки, Ябумото [1] обнаружил, что ни карбовакс 20 М, ни SE 30 не обеспечивали полного разделения всех компонентов смеси. На неподвижной жидкой фазе карбовакс 20 М изобутилацетат и метил-2-метилбутаноат имеют индекс удерживания, равный 1008, а 2-метилбутилацетат и 3-метилбутилацетат — равный 1119. На колонке с жидкой фазой SE 30 эти пары можно было разделить, поскольку вещества первой пары имели индексы удерживания, равные 766 и 772 соответственно, а вещества второй пары — 872 и 870 соответственно. Однако пентилацетат и изобутилбутират, которые хорошо разделялись на колонке с карбоваксом 20 М

($I = 1169$ и $I = 1158$ соответственно), дают общий хроматографический пик при разделении на колонке с жидкой фазой SE 30 ($I = 905$ и $I = 906$ соответственно).

Появление асимметрично растянутых хроматографических пиков может указывать на необходимость специальных мер. Если этот дефект вызван кислотной группой, то пики хорошей формы обычно удается получить, используя неподвижные жидкие фазы FFAP или SP 1000. Если же этот дефект вызван основной группой, то полезным может оказаться добавление следовых количеств КОН в раствор неподвижной жидкой фазы, применяемый для нанесения жидкой фазы на стенки колонки. В этих случаях полезной может оказаться стандартная смесь, рекомендованная Гробом (разд. 5.4). При разделении на простых колонках с неподвижной жидкой фазой SE 30 наблюдается некоторое расширение задних фронтов хроматографических пиков спиртов; этот недостаток можно устранить при помощи определенных добавок к жидкой фазе (разд. 2.2), однако при этом сильно снижается верхний предел диапазона рабочих температур колонки.

При выборе подходящей колонки для конкретных разделений могут помочь примеры, приведенные в гл. 13, которые ограничиваются в основном разделением на открытых стеклянных колонках. Совершенно ясно, однако, что при всей первостепенной важности эффективности колонки существенную роль играет и полярность неподвижной жидкой фазы.

10.2. КОНЦЕПЦИЯ ПОЛЯРНОСТИ ПО РОРШНЕЙДЕРУ

Необходимость разработки более рациональной концепции полярности неподвижной жидкой фазы отмечали многие исследователи; один из наиболее логически обоснованных подходов к этой проблеме принадлежит Роршнейдеру [2]. Он исходил из того, что если вещество растворено в совершенно неполярной

жидкой фазе, то оно будет подвергаться действию только неполярных или дисперсионных сил, поскольку полярные силы (вызывающие индукцию, ориентацию, перенос зарядов или образование водородных связей) при этом отсутствуют. В качестве стандартной неполярной жидкой фазы Роршнейдер выбрал сквалан (сильно разветвленный насыщенный углеводород $C_{30}H_{62}$), а для описания характеристик удерживания веществ он пользовался системой индексов удерживания Ковача (разд. 7.3).

Соединение RX (R — углеводородная цепь, X — функциональная группа) характеризуется наименьшим индексом удерживания I на сквалане; любая другая жидкая фаза обладает некоторой долей полярности, причем полярные силы действуют на RX в большей степени, чем на нормальные углеводороды, относительно которых определяются индексы удерживания. Соответствующую разность в индексах удерживания, представляющую собой меру полярности второй жидкой фазы относительно сквалана, Роршнейдер обозначил ΔI :

$$\Delta I = I_{\text{фаза}} - I_{\text{сквалан}}$$

Для представления набора функциональных групп, с которыми могут взаимодействовать полярные силы, были выбраны пять стандартных соединений: бензол, этанол, бутанон-2, нитрометан и пиридин. Если разделить на 100 увеличение индекса удерживания каждого из этих соединений по отношению к индексу

Соединение	$I_{20\text{ M}}$	$I_{\text{сквалан}}$	$I/100$	Константа
Бензол	967	649	3,18	<i>x</i>
Этанол	917	384	5,33	<i>y</i>
Бутанон-2	912	531	3,81	<i>z</i>
Нитрометан	1159	457	7,02	<i>u</i>
Пиридин	1199	695	5,04	<i>s</i>

удерживания на сквалане, то получатся константы Роршнейдера x , y , z , u и s соответственно. Так, для неподвижной жидкой фазы карбовакс 20 М были получены приведенные выше (стр. 131) константы Роршнейдера.

Таким образом, константы Роршнейдера x , y , z , u и s дают качественное и количественное представления о селективности неподвижной жидкой фазы. Можно ожидать, что жидкие фазы, характеризующиеся большими значениями x , будут сильнее удерживать соединения с двойными связями; спирты будут сильнее удерживаться жидкими фазами, характеризующимися большими значениями y .

По мнению Роршнейдера, эта селективность обусловлена не только свойствами неподвижной жидкой фазы, которая взаимодействует с анализируемым веществом, но и свойствами анализируемого вещества, которое взаимодействует с неподвижной жидкой фазой. Он предложил следующую зависимость:

$$\Delta I = ax + by + cz + cz + du + es, \quad (10.2)$$

где a , b , c , d , e характеризуют силы взаимодействия, обусловленные анализируемым веществом, а x , y , z , u , s — силы, обусловленные неподвижной жидкой фазой. Выше было показано, каким образом определяются константы Роршнейдера. Определив величины ΔI для одного и того же анализируемого вещества на пяти разных неподвижных жидких фазах, для которых известны константы x , y , z , u , и s , можно записать систему пяти уравнений [вида (10.2)] относительно пяти неизвестных a , b , c , d и e .

Позднее Мак-Рейнольдс предложил небольшую модификацию этого метода, но основной принцип остался тем же. В настоящее время константы Мак-Рейнольдса (приложение II) широко применяют для сравнения полярностей разных неподвижных жидких фаз, но они не дают полного представления о том, какие жидкие фазы наиболее подходят для разделения соединений с аналогичными характеристиками удерживания.

10.3. ДРУГИЕ МЕТОДЫ ВЫБОРА КОЛОНКИ

Было показано, что смеси неподвижных жидких фаз характеризуются промежуточными значениями констант Роршнейдера (или Мак-Рейнольдса) и что эти значения можно заранее оценить. В связи с этим высказывалось предположение о том, что неподвижные жидкие фазы можно специальным образом перемешать для получения неподвижных фаз, характеризующихся наилучшими константами Роршнейдера для требуемого разделения [3]. Основываясь на этом, Вайнер и Парчер [4] разработали методику факторного анализа для выбора неподвижных жидких фаз по ограниченному объему данных.

Одной из наиболее интересных представляется методика выбора колонки, предложенная Вестом и Холлом [5]. Авторы этой методики установили простое соотношение, которое опирается на систему индексов удерживания Ковача и в котором учитываются эффективность колонки и селективность неподвижной жидкой фазы, необходимые для осуществления желаемой степени разделения двух веществ, дающих близко расположенные хроматографические пики.

Лауб и Пернелл предложили новый метод выбора смесей неподвижных жидких фаз, обеспечивающих оптимальное разделение известных [6] и неизвестных [7] смесей. Этот метод позволяет установить, при каких объемных долях двух (или большего числа) смешиваемых неподвижных жидких фаз будут обеспечены наибольшие относительные удерживания (значения α) всех компонентов анализируемой смеси, сколько пиков будет на хроматограмме и каков будет порядок элюирования разделенных компонентов. Несмотря на то что наибольшую ценность этот метод имеет для насадных колонок в силу присущей им малой эффективности, он может быть полезен и при проведении особенно трудных разделений на открытых колонках.

10.4. РОЛЬ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОЛОНКИ

При выборе неподвижной жидкой фазы для проведения конкретных разделений необходимо уделять внимание и эффективности колонки. Выше уже было показано (разд. 1.3), что степень разделения двух соединений зависит от их относительного удерживания α и от эффективности колонки N . Допустим, что необходимо разделить два компонента, для которых величина $\alpha = 1,056$ на метилсиликоновой неподвижной жидкой фазе SE 30 и $\alpha = 1,194$ на неподвижной жидкой фазе карбовакс 20 М. Из выражения (1.15) следует, что для разделения этих компонентов вблизи нулевой линии ($R = 1,5$) на неподвижной жидкой фазе SE 30 потребуется примерно 13 000 теоретических тарелок, а на неподвижной жидкой фазе карбовакс 20 М — около 1400 теоретических тарелок. При этом исследователь, работающий с насадочной колонкой размерами 2 м $\times$ 6 мм, не имеет выбора: он вынужден взять неподвижную жидкую фазу карбовакс 20 М с тем, чтобы скомпенсировать малое значение N большим значением α . Но 13 000 теоретических тарелок — не предел для колонок типа ОНС; часто такую эффективность можно обеспечить при длине колонки лишь 4—5 м. Благодаря высокой эффективности таких колонок можно пересмотреть многие ограничения, которые учитывались в прошлом. Относительно «мало селективные» неподвижные жидкие фазы часто могут обеспечить превосходное разделение лишь за доли того времени, которое требуется на это при использовании жидких фаз, характеризующихся большим удерживанием анализируемых соединений.

Литература

1. Yabumoto K., Investigation of Certain Volative Constituents of Ripening Cantaloupe. Ph. D. Thesis, Univ. of California, Davis, California, 1976.
2. Rohrschneider L., Chromatogr., 22, 6 (1966).
3. Jennings W. G., Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm., 1, 9 (1971).
4. Weiner P. H., Parcher J. F., J. Chromatogr. Sci., 10, 612 (1972).
5. West S. D., Hall R. C., J. Chromatogr. Sci., 14, 339 (1976).
6. Laub R. J., Purnell J. H., Anal. Chem., 48, 799 (1976).
7. Laub R. J., Purnell J. H., Anal. Chem., 48, 1720 (1976).

Глава 11

ПОДГОТОВКА
АНАЛИЗИРУЕМОЙ ПРОБЫ

11.1. ОБЩИЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Газовая хроматография обеспечила огромный прогресс в области анализа летучих веществ, но вместе с тем этим методом очень часто злоупотребляли и в редких других методах результаты анализа столь часто подвергались вопиюще неправильной интерпретации. Часто исследователи ошибочно полагают, что хроматограмма дает точное представление о составе анализируемого материала, забывая о том, что, за исключением, требуется существенная предварительная обработка большинства анализируемых веществ для приготовления экстракта или летучих продуктов, пригодных для газохроматографического анализа. В процессе подготовки подобных проб могут происходить глубокие изменения в составе анализируемых веществ, и, кроме того, не все вещества, вводимые в хроматографическую колонку, устойчивы в условиях газохроматографического процесса: одни компоненты анализируемой пробы не достигают входного устройства хроматографа, другие не выходят из него и третьи не выдерживают условий в самой колонке. Применение незаполненных хроматографических колонок и целиком стеклянных хроматографических систем позволяет решить некоторые из этих проблем.

Иногда в хроматограф можно вводить непосредственно, т. е. без предварительной обработки, эфирные масла и такие материалы, как относительно концентрированные химические реакционные смеси или смеси низкокипящих фракций нефти. Но даже и в этих случаях при помощи предварительного выделе-

ния или фракционирования концентрацию следовых компонентов можно поднять до уровня, достаточного для обнаружения. Исследователь, желающий изучить состав разбавленной парофазной системы (например, анализ воздуха, дымовых газов, вдыхаемых и выдыхаемых газов) или состав проб, содержащих большие количества воды, спиртов или нелетучих материалов (к которым относится большинство продуктов биологического происхождения), встречается с новыми проблемами. Вводом в хроматограф проб, содержащих большие количества воды, спирта или других сильно адсорбирующихся материалов, можно быстро испортить колонку; кроме того, нужно тщательно избегать ввода нелетучих материалов. Такие нелетучие вещества могут не только испортить колонку, но, медленно разлагаясь в ней с образованием летучих веществ, привести к появлению серьезных проблем, связанных с уровнем шумов; кроме того, эти материалы могут вступать в реакции с компонентами последующих проб, что станет причиной появления лишних хроматографических пиков. Особое беспокойство эти явления могут причинять при анализе материалов биологической природы. Чтобы анализировать летучие вещества без подобных помех, следует каким-либо способом удалить из смеси нелетучие компоненты.

Итак, перед исследователем стоят две задачи. Одна из них, которую можно назвать *выделением*, заключается в том, чтобы отделить анализируемые летучие соединения от мешающих веществ, таких, как нелетучие материалы, вода или большие количества этанола. Другая задача — *концентрирование*. Она состоит в том, чтобы увеличить концентрацию детектируемых материалов настолько, чтобы в пробе той величины, которая допустима для ввода в колонку, содержалось достаточное для детектирования количество этих материалов.

Эти проблемы многогранны, и поэтому невозможно выбрать какую-либо единственную методику выделения или концентрирования, которая была бы универсальной. Вместо поиска универсального метода исследователь должен учесть особенности имеющейся у

него хроматографической системы и особенности анализируемого им анализа и решить, какие из существующих методик наиболее подходят для него или какие из этих методик можно модифицировать для достижения поставленных целей.

11.2. АНАЛИЗ ПАРОВ ЛЕТУЧИХ ВЕЩЕСТВ НАД АНАЛИЗИРУЕМЫМ МАТЕРИАЛОМ И АНАЛИЗ ПОЛНОГО СОДЕРЖАНИЯ ЛЕТУЧИХ ВЕЩЕСТВ В МАТЕРИАЛЕ

Вейрман [1] опубликовал хороший обзор классических методик выделения и концентрирования летучих компонентов. Несмотря на то что в этом обзоре основное внимание он уделил веществам, определяющим запах пищевых продуктов, многие из высказанных им идей применимы и к другим системам как биологической, так и небиологической природы. Он считает, что полное содержание летучих веществ в материале связано с составом выделяющихся из него летучих веществ, который зависит от распределения этих веществ внутри материала и от его физического состояния. Этот вывод иллюстрирует рис. 11.1. В верхней части схемы, приведенной на этом рисунке, показаны две водные пробы биологического происхождения, которые содержат полярные и неполярные летучие компоненты, нелетучие нерастворимые липиды, а также нелетучие вещества, среди которых могут быть сахара, соли, аминокислоты и белки. Кроме того, продукт, приведенный в левой части рис. 11.1, содержит частицы твердого нерастворимого материала, и, как показано на рисунке, некоторые компоненты (летучие и нелетучие) адсорбированы на этих частицах. В том случае, когда имеется избыток липидов, как, например, в продукте в правой части рисунка, считают, что все неполярные летучие вещества растворены в липидных шариках. С другой стороны, в продукте в левой части рисунка имеется ограниченное количество липидов, и некоторое количество неполяр-

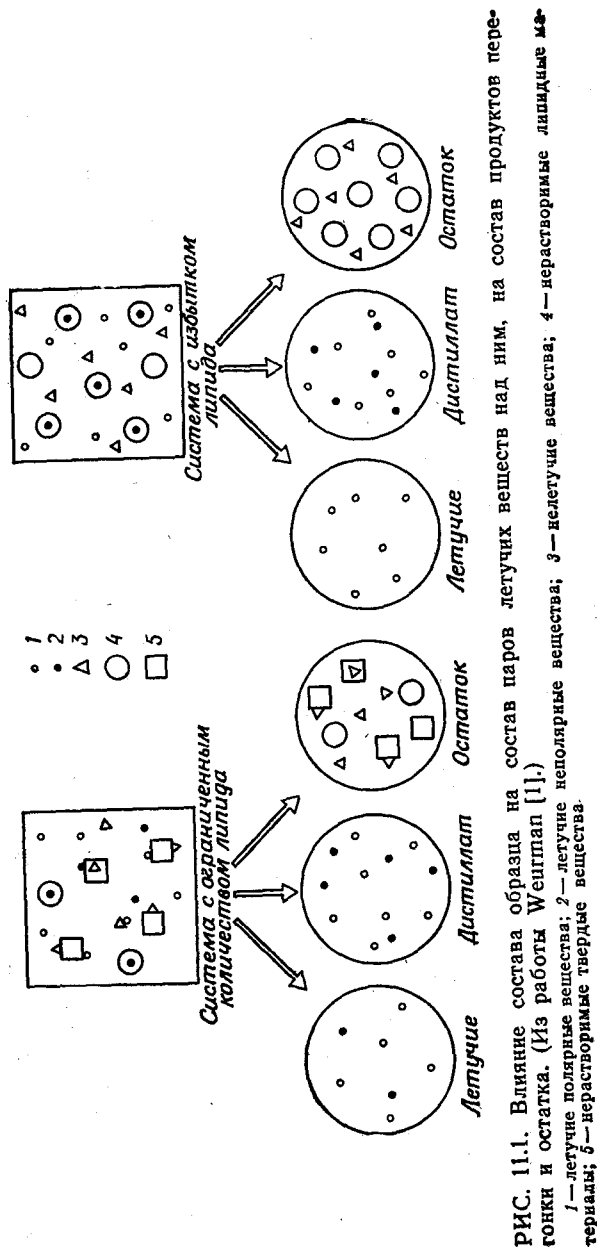


РИС. 11.1. Влияние состава образца на состав паров летучих веществ над ним, на состав продуктов перегонки и остатка. (Из работы Weingart [1].)

ных летучих веществ осталось взвешенным в водной фазе. Круги нижней части схемы отражают распределение различных веществ в парах веществ над продуктом и последующую дистилляцию. Несмотря на то что полное количество летучих веществ качественно и количественно одно и то же в обоих случаях, относительно давление паров этих веществ, а следовательно, и их концентрация в парах над продуктом различны, поскольку различны распределения этих компонентов.

11.3. АНАЛИЗ РАВНОВЕСНОЙ ПАРОВОЙ ФАЗЫ

Непосредственный ввод в хроматограф пробы пара над пищевым продуктом привлекает своей простотой и в некоторых случаях дает удовлетворительные результаты [2, 3]. К сожалению, при этом хроматографические пики дают лишь те вещества, которые характеризуются достаточно высоким давлением паров и которые имеются в пробе в количестве, достаточном для их обнаружения детектором. Пробы большей величины содержат большие количества менее летучих материалов, однако такие пробы не смогут обеспечить узкие хроматографические зоны и острые хроматографические пики; вместо этого они дают широкие наложенные друг на друга пики и плохое разделение. Некоторые исследователи перед входом в колонку устанавливают охлаждаемую ловушку или охлаждают короткий начальный участок самой колонки. При этом неконденсирующиеся газы проходят сквозь, а конденсирующиеся летучие вещества остаются в ловушке или в охлажденном переднем участке колонки. Затем охлаждаемый участок нагревают, и начинается процесс хроматографирования. Сразу же очевидны две связанные с этим трудности: нелегко сконструировать доколонульную ловушку так, чтобы ее содержимое быстро переносилось в колонку при малых скоростях газового потока, используемых в таких высокоэффек-

тивных системах; кроме того, при анализе проб, содержащих пары воды, основным выделяемым веществом является вода. При существующих в настоящее время методах детектирования относительно мало систем можно достаточно хорошо исследовать простым методом, непосредственно вводя в хроматограф пробы пара летучих компонентов, образующегося над продуктом.

11.4. ОБЩИЕ ЗАМЕЧАНИЯ О МЕТОДИКАХ ВЫДЕЛЕНИЯ И КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ

Большинство методик выделения или концентрирования летучих компонентов включают стадии кристаллизации (в том числе и воды), дистилляции, экстракции или адсорбции. На любой из этих стадий могут происходить количественные изменения в содержании выделяемых веществ, а на некоторых стадиях могут происходить и качественные изменения, например образование новых летучих или исчезновение ранее присутствующих летучих веществ.

Перед выделением летучих фракций многие материалы требуется так или иначе механически расщеплять или разрезать. Иногда на этом этапе, особенно при обработке биологических проб, необходимо следить за тем, чтобы не произошло химических или ферментативных изменений в обрабатываемом материале. Очень важно (это подчеркивал и Вейрман) помнить о том, что ошибки, допущенные на начальных стадиях выделения и концентрирования, невозможно исправить на последующих стадиях анализа.

11.5. ПЕРЕГОНКА

Перегонка — стадия, которую чаще всего применяют для выделения летучих веществ из нелетучих материалов; иногда перед перегонкой или после нее используют стадию концентрирования, включающую

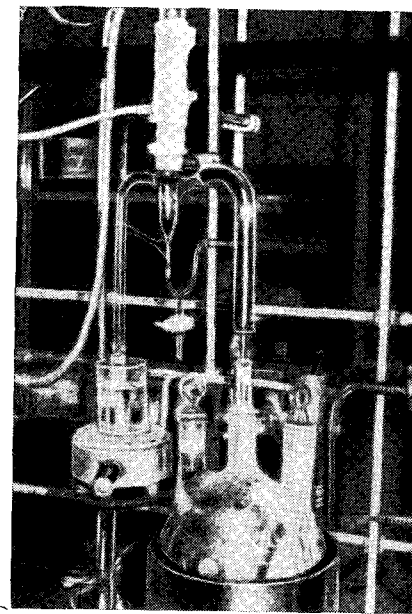


РИС. 11.2. Модифицированное устройство для перегонки и экстракции.

Продукты перегонки из большой колбы с образцом (справа) конденсируются вместе с непрерывно циркулирующим растворителем. Через левый отвод менее плотный растворитель возвращается в резервуар с растворителем, а через правый отвод водный остаток возвращается в колбу с образцом [5].

адсорбцию, экстракцию или вымораживание (см. ниже). Иногда перегонку ведут в простом аппарате невысокой эффективности (одна тарелка) при атмосферном или пониженном давлении, а иногда в многотарелочной колонке с обратным холодильником; в любом случае материал, из которого отгоняются легкие фракции, подвергается относительно энергичной обработке в течение относительно продолжительного времени. В последнее время в продаже появились вакуумные испарители с поднимающейся пленкой и вращающейся пленкой. Эти устройства обладают не-

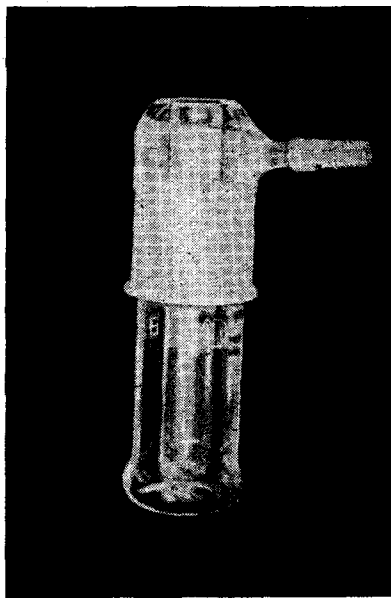


РИС. 11.3. Простая охлаждаемая ловушка для работы в высоком вакууме.

Образец (от пищевых продуктов до сырой нефти или битума) помещают в большую камеру, а внутренний сосуд — «холодный палец» — заполняют охлаждающим агентом (сухой лед или жидкий азот). Камеру откачивают через боковую трубку; образец можно нагревать, поместив все устройство на горячую поверхность.

сколькими преимуществами и оказывают меньшее неблагоприятное воздействие на обрабатываемые материалы вследствие гораздо меньшей продолжительности их контакта с нагретой поверхностью. Несколько других методик перегонки с использованием замкнутых и рециркуляционных систем описали Вейрман, а позднее Тераниши и сотр. [4]. Специального упоминания заслуживает устройство для одновременной перегонки и экстракции, описанное Никерсоном и Ликенсом [5]. Это устройство, показанное на рис. 11.2, способно работать и при пониженных давлениях. За исключением этого устройства, все остальные дают разбавленный водный дистиллят, из которого затем

выделяют летучие вещества путем экстракции или адсорбции; иногда рекомендуется предварительно концентрировать этот дистиллят (см. ниже).

Добавление воды к безводной пробе (например, жира или масла) или к пробе с ограниченным содержанием воды иногда может оказаться нежелательным. В таких случаях для перенесения летучих компонентов в охлаждаемую ловушку, в адсорбент или в абсорбент (см. ниже) можно использовать диоксид углерода [6], азот [7] или воздух [8, 9]. Очень хорошие результаты можно получить при выделении летучих веществ из различных материалов с применением высокого вакуума без использования перегонки с газом или водяным паром. Простое устройство для проведения такого выделения в вакууме показано на рис. 11.3.

11.6. КОНЦЕНТРИРОВАНИЕ ПОНИЖЕНИЕМ ТЕМПЕРАТУРЫ

При необходимости экстрагирования водных проб больших объемов требуются большие объемы растворителей (или специальные рециркуляционные системы, с применением которых связаны свои трудности; см. ниже). Большие объемы растворителя нежелательны с многих точек зрения, но основная причина заключается в необходимости извлечения основной части растворителя (и части экстрагированных летучих компонентов) из обрабатываемого материала перед анализом, а также неизбежное концентрирование содержащихся в растворителе примесей, которые иногда оказываются доминирующими в последующих анализах. Часто бывает нужно уменьшить объем водной пробы перед проведением экстракции или адсорбции. В тщательно контролируемых условиях можно выморозить из пробы практически чистую воду так, что концентрация других компонентов в меньшем объеме незамерзающей жидкости станет пропорционально выше. Эта методика привлекает тем, что проба обрабатывается в очень мягких условиях и для

проведения вымораживания достаточно простого устройства. Порции раствора можно помещать в стакан и непрерывно перемешивать его при температуре ниже температуры замерзания или вводить в круглодонную колбу, погруженную наполовину в охлаждающую баню и непрерывно вращающуюся. Во избежание окклюзии и улавливания охлаждения нужно вести медленно и в равновесных условиях. Важную роль играют при этом скорость перемешивания (или вращения) и температура охлаждающей бани. Сообщалось, что этим способом удавалось повысить концентрацию в 5—40 раз, что эквивалентно удалению 80—95 % воды.

11.7. ЭКСТРАКЦИЯ

Обычно, но не всегда экстракцию предваряют стадией разделения, такой, как перегонка с водяным паром. В качестве экстрагирующей жидкости обычно используют неполярный органический растворитель, причем применяют самые разнообразные растворители. Если экстрагирование ведется низкокипящим растворителем, то перед анализом основную часть его извлекают фракционированной перегонкой или испарением. При использовании высококипящего растворителя наиболее летучие компоненты анализируемого вещества извлекают из него перегонкой обычно при пониженном давлении. Этот способ более подходит в тех случаях, когда исследователь заинтересован в выделении низкокипящих летучих компонентов. Для вытеснения экстрагируемых соединений из водной фазы в органический растворитель часто применяют соли, такие, как хлорид или сульфат натрия. Однако иногда действие этих солей оказывается более сложным, чем обычно полагают, и вопрос об их применении следует внимательно проанализировать. В некоторых случаях соль вытесняет растворенные вещества из водной фазы, но при этом они могут появиться в парах над обрабатываемым материалом, а не экстрагироваться органическим растворителем.

Обычно растворитель-экстрагент выбирают с учетом его экстракционной эффективности, инертности и температуры кипения. Для экстракции продуктов перегонки с водяным паром многие исследователи предпочитают этиловый эфир в силу его высокой экстракционной способности, хотя пентан или изопентан могут обеспечить лучшие результаты при экстракции продуктов ферментации; углеводороды обладают меньшей экстракционной эффективностью, но при их использовании в водной фазе остаются низкомолекулярные спирты, которые обычно переходят в эфирный экстракт. Этиловый эфир склонен к образованию перекиси, и неосторожное его использование в качестве растворителя-экстрагента может привести к образованию посторонних веществ. Как правило, чем ниже температура кипения растворителя-экстрагента, тем меньше потери низкокипящих летучих веществ на окончательной стадии концентрирования. Но даже и при использовании низкокипящего растворителя необходимо следить за объемом удаленного растворителя; летучие вещества даже с достаточно высокими температурами кипения вносят свой вклад в давление паров системы, и поэтому в процессе концентрирования следует ожидать потерь летучих пропорционально их концентрации и давлению паров. Иногда концентрирование осуществляют, направляя поток азота в пробирку с концентрируемым экстрактом. По мере испарения растворителя экстракт охлаждается, при этом происходит концентрирование имеющихся в газе примесей, которые затрудняют последующий анализ. В некоторых условиях в пробирке может конденсироваться атмосферная влага. От имеющихся в газе примесей можно избавиться, если предварительно пропустить газ через молекулярное сито (см. ниже).

В качестве растворителей-экстрагентов применяют и фторуглероды, а также этилхлорид, имеющиеся в продаже и называемые фреонами. Применяют также и жидкий диоксид углерода в системах с повышенным давлением [12]. Во всех случаях, когда неизвестен состав анализируемой смеси, очень важно включить в нее контрольное вещество с тем, чтобы

можно было проверить, какие из полученных хроматографических пиков обусловлены компонентами анализируемой смеси*.

11.8. ЗОННАЯ ОЧИСТКА

Применение зонной очистки (или зонной плавки) при приготовлении проб имеет то преимущество, что позволяет получать очень высокие концентрации веществ в очень мягких условиях. Бензол, обладающий температурой замерзания $5,5^{\circ}\text{C}$, — весьма подходящий растворитель для этого способа. При помощи этой методики, которая пригодна и для концентрирования продуктов перегонки с водяным паром, Хакль [13] добился 3000-кратного увеличения концентрации компонентов малинового сока. Принцип, лежащий в ее основе, заключается в том, что медленно замораживаемый в равновесных условиях растворитель выталкивает примеси и замораживается в чистом виде. Хакль заполнял бензолом стеклянную трубку и замораживал его. При помощи устройства, показанного на рис. 11.4, вдоль трубки перемещали несколько зон плавления, расположенных на одинаковых расстояниях. Эти зоны получали при помощи узких медленно перемещающихся кольцевых нагревателей. Мощность нагревателей и температуру воздуха, окружающего ненагреваемые участки трубки, необходимо тщательно подобрать с таким расчетом, чтобы каждая расплавленная зона вновь замораживалась в равновесных условиях по мере передвижения нагревателей. Содержащиеся в бензоле примеси, оставаясь в расплаве, пере-

* В ряде случаев для идентификации анализируемых соединений целесообразно использовать комбинированные хроматораспределительные методы. Хроматораспределительные методы являются двухстадийными методами. Первая стадия включает установление равновесия анализируемых соединений между двумя несмешивающимися фазами, вторая — анализ фаз с целью определения в них концентрации анализируемых компонентов. Подробно эти методы описаны в работе: Березкин В. Г., Ложилова В. Д., Панков А. Г., Ягодновский В. Д. Хроматораспределительный метод. — М.: Наука, 1976. — Прим. ред.

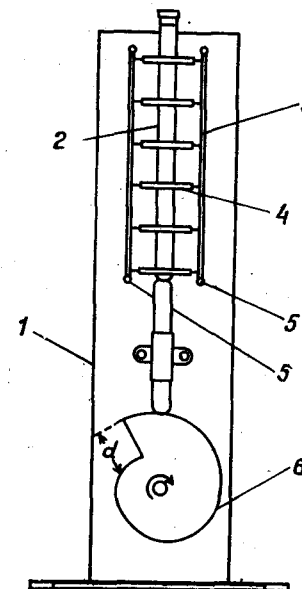


РИС. 11.4. Типичный аппарат для зонной плавки.

Нагреватели расположены в ряд и закреплены на жестких направляющих на расстояниях, равных высоте кулачка d . При вращении кулачка образуются шесть непрерывно перемещающихся зон плавления. Время одного оборота кулачка 2–6 ч.

1 — пластиковый корпус; 2 — трубка для очистки растворителя; 3 — жесткие направляющие и держатели нагревателей; 4 — нагреватели; 5 — клеммы для подачи электрического напряжения к нагревателям; 6 — кулачок.

мещаются ко дну пробирки. После того как зоны плавления проходят по трубке несколько раз (для чего может потребоваться несколько дней), всю трубку замораживают и отбрасывают ее донную часть. Полученным тщательно очищенным растворителем можно провести экстракцию, отделить экстракт от обрабатываемого материала и подвергнуть его очистке тем же способом. Однако на этот раз выделенные примеси представляют собой сильно концентрированные анализируемые летучие вещества, которые можно ввести в хроматограф.

Несмотря на всю привлекательность, этот способ концентрирования не нашел широкого применения.

Основная трудность, по крайней мере в работе автора этим способом, была связана с флуктуациями температуры воздушной бани, которую применяли для замораживания растворителя. Мощность нагревателей можно контролировать с очень высокой точностью, но при изменениях температуры воздушной бани в пределах 1—2°C либо замерзает растворитель по всей длине трубки и не происходит отгонки примесей, либо весь растворитель в пробирке плавится и происходит его полное перемешивание.

11.9. АДСОРБЦИОННЫЕ МЕТОДЫ

Для выделения летучих веществ из потока водяного пара или воды широко применяют активированный углерод в форме гранулированного древесного угля [12, 14—16]. Несмотря на то что в любом процессе адсорбции велика вероятность образования посторонних веществ, несколько исследователей, изучавших эти процессы [17—19], не обнаружили значительных перегруппировок или разрушений. В лаборатории автора наблюдали небольшие перегруппировки эфирных масел груши Бартлетта: небольшое количество *транс*: 2-*цис*: 4-декадиеноатов явно перегруппировалось в *транс*, *транс*-конфигурацию после адсорбции на древесном угле и хранения в течение 8 лет при комнатной температуре.

В качестве адсорбентов применяли также кокосовый и костяной угли как в виде таблеток, так и в виде относительно грубого помола (например, 20—40 меш). После стадии адсорбции без предварительного высушивания угля адсорбированные компоненты можно элюировать разными растворителями, такими, как этиловый эфир, пентан, дисульфид углерода или жидкий диоксид углерода. Кроме того, уголь с адсорбированными веществами можно лиофилизировать для удаления воды и затем элюировать растворителем либо подвергнуть действию медленно повышающейся температуры в вакууме. Последним способом можно получить безводные не содержащие раствори-

теля продукты. Можно показать, что стадии адсорбции и десорбции обладают некоторой долей селективности [1].

11.10. АБСОРБЦИЯ ПОРИСТЫМИ ПОЛИМЕРАМИ

Несколько лет назад появились новые материалы в форме пористых полимерных шариков, предназначенные для гель-проникающей хроматографии. Как правило, эти материалы представляют собой сополимеры стирола и дивинилбензола или подобных им соединений; они поступают в продажу под разными марками (см. приложение III). Шарiki таких материалов содержат поверхностные функциональные группы, и этим они похожи на твердые носители, покрытые неподвижной жидкой фазой. По этой причине несколько исследователей изучали возможность их использования в качестве газохроматографических насадок. Результаты исследований показали, что подобное применение таких материалов ограничивается несколькими специальными случаями, но вместе с тем они характеризуются определенными уникальными свойствами: вода и низкомолекулярные спирты обладают очень малыми временами удерживания на таких насадках (приложение III) и дают симметричные хроматографические пики. Эти свойства указывали на возможность использования таких материалов в технике подготовки проб: сквозь трубки или ловушки, заполненные подобным пористым полимером, можно пропускать большие количества воздуха или паров летучих веществ, образующихся над анализируемым материалом. Вещества, обладающие малыми временами удерживания, такие, как неконденсирующиеся газы, вода и низкомолекулярные спирты, проходят сквозь такую ловушку за относительно короткий срок. Другие вещества накапливаются в ловушке, и впоследствии их можно вывести оттуда обратной продувкой в охлаждаемую ловушку [20, 21]. Этот способ оказался весьма успешным, и его широко применяли

в анализах самых разнообразных материалов ([2, 8, 9, 22—26], см. также гл. 13).

При всей видимой простоте этого способа многие исследователи встречались с разными трудностями при его осуществлении. Большинство поступающих в продажу пористых полимеров сильно загрязнено, и перед употреблением их необходимо тщательно кондиционировать. Следует также отметить, что если предварительно не очистить применяемый для продувки газ-носитель (обычно воздух или азот высокой чистоты), то основными выделенными летучими веществами, как правило, будут следовые примеси, имеющиеся в этом газе. Для очистки газа применяли несколько методов; обычно достаточно пропустить газ сквозь смешанный слой молекулярных сит 4А (или 5А) и 13Х. При нагревании в присутствии воздуха или кислорода пористые полимеры претерпевают некоторую деградацию; поэтому кондиционирование полимера и извлечение из него анализируемых веществ лучше всего вести с использованием инертного газа, такого, как азот.

В большинстве случаев ловушка представляет собой короткую стеклянную трубку (с внешним диаметром 4—15 мм), содержащую небольшое количество (0,5—20 г) пористого полимера, заключенного между двумя пробками из стекловаты. Кондиционирование ведут пропусканием сквозь ловушку при повышенной температуре предварительно очищенного азота. Как уже упоминалось выше, прежде чем повышать температуру ловушки, рекомендуется вытеснить из нее воздух; максимальная температура должна быть ниже верхнего предела, указанного в паспорте полимера. Вести кондиционирование следует в течение по меньшей мере одной ночи, а лучше в течение нескольких суток. По окончании кондиционирования ловушку охлаждают до температуры чуть выше температуры образца и ведут улавливание при помощи потока газа (воздуха или азота), идущего в том же направлении. Затем образец убирают и иногда после этого ловушку продувают потоком газа для удаления из нее следов слабоудерживаемых веществ (воды, этанола) [27].

После этого из ловушки извлекают уловленные вещества путем продувки ее в обратном направлении азотом при повышенной температуре.

Предлагалось также элюировать вещества из пористого полимера растворителем [28]; по-видимому, наилучшие результаты эта методика дает при использовании пористого полимера тенакс GC (приложение III). Сначала один конец стеклянной трубки вытягивают в длинный суживающийся капилляр, а затем трубку заполняют полимером. После улавливания сквозь слой пористого полимера пропускают минимальное количество свежеперегнанного этилового эфира до тех пор, пока небольшое количество эфира не окажется в конце капилляра. Этот эфир и отбирают микрошприцем для последующего анализа.

Литература

1. Weurman C., J. Agric. Food Chem., 17, 370 (1969).
2. Jennings W. G., Filsoof M., J. Agric. Food Chem., 25, 440 (1977).
3. Yabumoto K., Yamaguchi M., Jennings W. G., J. Food Chem. (in press).
4. Teranishi R., Hornstein I., Issenberg P., Wick E. L., «Flavor Research», Dekker, New York, 1971.
5. Nickerson G. B., Likens S. T., J. Chromatogr., 21, 1 (1966).
6. Honkanen H., Karvonen P., Acta Chem. Scand., 20, 2626 (1966).
7. Nawar W. W., Fagerson I. S., Food Technol. Chicago, 16, 107 (1962).
8. Tressl R., Jennings W. G., J. Agric. Food Chem., 20, 189 (1972).
9. Jennings W. G., Tressl R., Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm., 3, 52 (1974).
10. Kepner R. E., van Straten S., Weurman C., J. Agric. Food Chem., 17, 1123 (1969).
11. Shapiro J., Anal. Chem., 39, 280 (1967).
12. Schultz T. A., Flath R. A., Black D. R., Guadagni D. G., Schultz W. G., Teranishi R., J. Food Sci., 32, 279 (1967).
13. Huckle M. T., Chem. Ind., p. 1490 (1966).
14. Ralls J. W., McFadden W. H., Siefert R. M., Black D. R., Kilpatrick P. W., J. Food Sci., 30, 228 (1965).
15. Tang C. S., Jennings W. G., J. Agric. Food Chem., 15, 24 (1967).
16. Jennings W. G., Nurtzen H., Anal. Chem., 39, 521 (1967).
17. Carson J. F., Wong F. F., J. Agric. Food Chem., 9, 140 (1961).
18. Paillard N., Fruits, 20, 189 (1965).
19. Hentz D. E., Sevenants M. R., Jennings W. G., J. Food Sci. 31, 63 (1966).

20. *Dravnieks A., O'Donnell A.*, Paper 2, 160th Nat. Meet., Am. Chem. Soc., Chicago, Sept. 13—18, 1970.
21. *Jennings W. G.*, Paper 99, 160th Nat. Meet. Am. Chem. Soc., Chicago, Sept. 13—18, 1970.
22. *Jennings W. G., Wohleb R. H., Lewis M. J.*, J. Food Sci., 37, 69 (1972).
23. *Uchman W., Jennings W. G.*, J. Food Chem., 2, 135 (1977).
24. *Jennings W. G.*, J. Food Chem., 2, 185 (1977).
25. *Zlatkis A., Bertsch W., Lichtenstein H., Tishbee A., Shunbo F., Leibich H. M., Coscia A. M., Fleischer N.*, Anal. Chem. 45, 763 (1973).
26. *Novotny M., McConnell M., Lee M. L.*, J. Agric. Food Chem., 22, 765 (1974).
27. *Jennings W. G., Wohleb R. H., Lewis M. J.*, Master Brewers Assoc. Am. Tech. Quart., 11, 104 (1974).
28. *Shaefer J.*, TNO, Zeist, The Netherlands, Personal communication.

Глава 12

АНАЛИЗ МАТЕРИАЛОВ ОГРАНИЧЕННОЙ ЛЕТУЧЕСТИ

12.1. ОБЩИЕ ЗАМЕЧАНИЯ

Соединения, содержащие активные атомы водорода (например, амино-, гидроксильные или карбоксильные группы) могут взаимодействовать с другими аналогичными группами или с неподвижной жидкой фазой. Иногда получают производные соединения этого типа с тем, чтобы выделить более летучие соединения, которые можно анализировать методами газовой хроматографии. Так, жирные кислоты часто превращают в соответствующие сложные метиловые эфиры. Эти эфиры не только обладают большей летучестью, но и гораздо менее склонны взаимодействовать с хроматографической системой, поскольку в них отсутствует активный атом водорода карбоксильной группы. Менее известные методы получения производных соединений некоторых специальных типов упоминаются в гл. 13.

12.2. ПИРОЛИТИЧЕСКАЯ ГАЗОВАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

Материалы, летучесть которых слишком мала для газохроматографического анализа, иногда можно подвергнуть термическому разложению и получить летучие продукты, анализ которых может дать информацию об исходном образце. Используемый для этой цели метод термического разложения известен под названием *пиролиз*, а результирующую хроматограмму называют *пирограммой*.

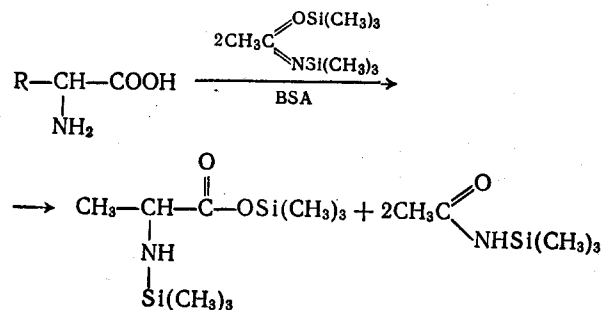
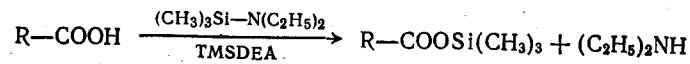
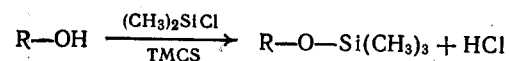
Большинство устройств для проведения пиролиза включает микрореактор или камеру с филаментом.

Последние больше распространены в силу простоты их устройства, но они обладают и некоторыми недостатками. Пробу обычно наносят непосредственно на нить или помещают ее в небольшой контейнер, окруженный нитью. Иногда ячейку с пробой размещают в потоке газа-носителя, нить нагревают для получения летучих продуктов разложения пробы, которые потоком газа-носителя переносятся в хроматографическую колонку; при этом на выходе из хроматографа получают характеристическую хроматограмму. В литературе были описаны примеры анализа таким методом пластмасс, полимеров и покрытий [1, 2], сополимеров [3—5], стероидов [6], микроорганизмов [7, 8], а также ингредиентов пищевых продуктов и лекарственных препаратов [9]. В практических анализах этим методом могут возникать трудности, связанные с вторичными реакциями, и воспроизводимость результатов анализа не всегда удовлетворительна. С развитием надежных методов силанизации в основном пропала необходимость обращаться к этому методу, и в настоящее время пиролитическую газовую хроматографию применяют главным образом в нескольких специальных случаях, таких, как анализ полимеров, хотя некоторые интересные сведения продолжают появляться в литературе. Блэкуэлл [10] применил пиролитическую газовую хроматографию для анализа мономерного состава сополимеров гексафторпропилена и винилиденфторида, а Босс и Хазлетт [11] подвергали пиролизу в золотой реакционной трубке несколько изомеров спиртов и кетонов и анализировали продукты пиролиза при помощи комбинации методов газовой хроматографии — масс-спектрометрии.

12.3. СИЛИЛИРОВАНИЕ

Разработка надежных методов силанизации, которая заключается в замещении активного атома водорода (иногда иона металла соли) триметилсилильной группой, позволила применять газовую хроматографию для анализа гораздо более широкого спектра соединений.

Так же, как и в примере с метиловым эфиром (разд. 12.1), в результате замещения активного атома водорода триметилсилильной группой снижается полярность соединения и ослабевает его тенденция к образованию водородных связей. Поэтому соединения, проявляющие сильную тенденцию к образованию водородных связей, имеют обычно более летучее силильное производное. Снижается и реакционная способность соединения, благодаря чему оно становится менее склонным вступать в реакции с другими веществами или с компонентами хроматографической системы.



Реагенты для этих и других аналогичных реакций легко доступны (приложение IV), а методики проведения реакций просты и легко реализуемы. Эти реакции обратимы: в присутствии влаги вновь образуется исходное соединение.

Иногда выгодно регенерировать исходное соединение после процесса разделения, однако регенерация может и мешать анализу. Силильные производные некоторых соединений, например аминокислот, можно хроматографировать на насадочных колонках. Повторение анализа с использованием более эффективной стеклянной капиллярной хроматографической системы показало, что не все компоненты выдерживают

условия разделения в насадочной колонке. По-видимому, это объясняется тремя факторами: наличием следовых количеств влаги (или кислорода?) в газе-носителе, температурой колонки и продолжительностью процесса разделения. Если в линию газа-носителя поместить химические поглотители влаги и работать с высокими скоростями потока газа-носителя, то процент «выживаемости» таких производных повысится. Некоторую роль может играть и скорость программирования температуры колонки. Если разложение обусловлено термической нестабильностью, то, возможно, следует снизить скорость программирования. Если, с другой стороны, основная причина разложения — слишком большая продолжительность анализа, то «выживаемость» производных может повыситься при увеличении скорости программирования температуры (разд. 8.4). Вполне возможно, что при анализе неустойчивых соединений лучшие результаты удастся получить на колонках типа НС или НСТН большого диаметра; при этом придется несколько пожертвовать эффективностью разделения, но зато уменьшатся времена удерживания анализируемых соединений (разд. 1.2).

12.4. МЕТОДИКА СИЛАНИЗАЦИИ

Поскольку реагенты силанизации обладают высокой реакционной способностью, их нужно хранить в охлаждаемом десикаторе и перед использованием испытывать на известной системе. Обычно для получения производного к сухому исходному соединению добавляют 10—50-кратный избыток реагента силанизации. Реакцию ведут в безводных условиях в закрытой завинчивающейся пробкой толстостенной стеклянной реакционной ампуле, стенки которой покрыты тефлоном. В качестве растворителя чаще всего используют пиридин, причем отдельные исследователи считают его катализатором силанизации. Указания на некоторые специальные аналитические методики имеются в приложении IV.

Литература

1. *Coupe N. B., Jones C. E. R., Stockwell P. B.*, *Chromatographia*, **6**, 483 (1973).
2. *Cucor P., Persiani C.*, *J. Macromol. Sci. Chem.*, **8**, 105 (1974).
3. *Okumoto T., Tsugi S., Yamamoto Y., Takeuchi T.*, *Macromolecules*, **7**, 376 (1974).
4. *Sellier N., Jones C. E. R., Guiochon G.*, *J. Chromatogr. Sci.*, **13**, 383 (1975).
5. *Wallisch K. L.*, *J. Appl. Polym. Sci.*, **18**, 203 (1974).
6. *Gassiot-Matas M., Julia-Danés E.*, *Chromatographia*, **9**, 151 (1976).
7. *Meuzelaar H. L. C., Ficke H. G., den Harink H. C.*, *J. Chromatogr. Sci.*, **13**, 12 (1975).
8. *Quinn P. A.*, *J. Chromatogr. Sci.*, **12**, 796 (1974).
9. *Roy T. A., Szinai S. S.*, *J. Chromatogr. Sci.*, **14**, 580 (1976).
10. *Blackwell J. T.*, *Anal. Chem.*, **48**, 1883 (1976).
11. *Boas B. D., Hazlett R. N.*, *Anal. Chem.*, **48**, 417 (1976).

Глава 13

ПРИМЕНЕНИЯ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ НА СТЕКЛЯННЫХ КАПИЛЛЯРНЫХ КОЛОНКАХ

13.1. ВВЕДЕНИЕ

Как отмечали Новотны и сотр. [1], в силу чрезвычайной сложности смесей летучих соединений, определяющих запах пищевых продуктов, загрязнений воздуха, табачного дыма и физиологических жидкостей, для их достаточно эффективного разделения требуются высокоэффективные капиллярные колонки. Кроме того, многие компоненты таких смесей (а также некоторые пестициды, производные наркотиков, фармацевтические вещества, аминокислоты, стероиды и сахараиды) при анализе в обычной газохроматографической системе сильно разрушаются или совсем не доходят до детектора. В связи с этим иногда пытаются использовать для подобных специфических анализов более инертные и высокоэффективные стеклянные открытые хроматографические колонки. Некоторые из этих попыток были связаны с подробным анализом соединений определенного класса, другие сводились к поверхностному анализу для демонстрации преимуществ этих хроматографических систем.

Цель данного раздела — дать не исчерпывающий обзор, а, скорее, представительную выборку результатов исследований, применявших стеклянные открытые колонки для анализов в разных областях.

13.2. АНАЛИЗ ВОЗДУХА И ДЫМА

Около 28 полициклических и полициклических ароматических углеводородов было обнаружено в газовой саже из серосодержащих нефтяных продуктов при анализе на короткой стеклянной колонке типа

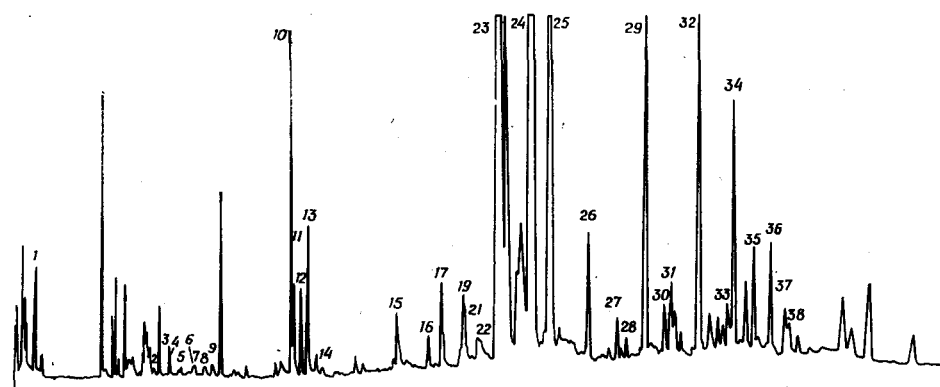
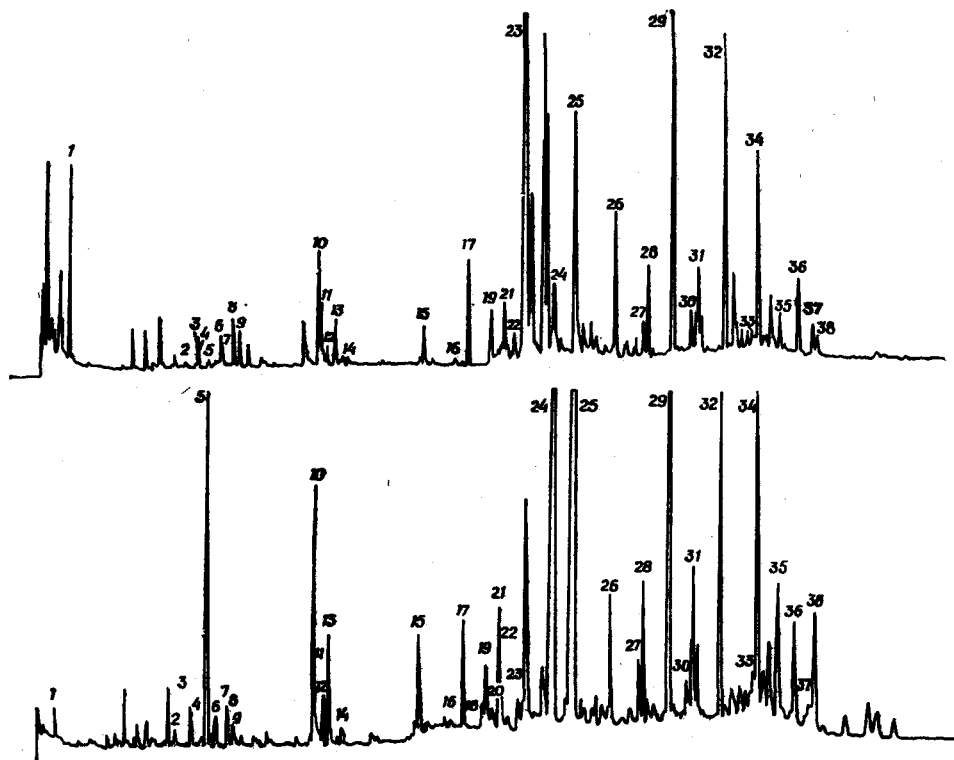
ОНС с неподвижной жидкой фазой SE 30 [2]. При повторении этого анализа на насадочной колонке из нержавеющей стали не только понизилась эффективность разделения, но и не удалось обнаружить серосодержащих соединений. Стеклянная капиллярная колонка обеспечила гораздо большую эффективность разделения и позволила разделить ранее не разделенные изомеры и соединения, присутствующие в следовых количествах.

Комбинируя фракции, разделенные методом жидкостной хроматографии, Ли и сотр. [3] получали селективно обогащенные конденсаты дыма табака и марихуаны и затем анализировали их на стеклянной газохроматографической колонке. Новотны и сотр. [4] концентрировали дым сигарет трех различных сортов при помощи пористого полимера тенакс GC. Полученные концентраты десорбировали и хроматографировали на стеклянных колонках типа HC (рис. 13.1). В другом исследовании [5] из пылевидных загрязнений воздуха было выделено свыше 100 полициклических соединений и в том числе следовые количества алкилированных соединений. При этом было продемонстрировано прекрасное разделение, в том числе и изомеров, различающихся положением алкильных групп.

Рапп и сотр. [6] идентифицировали разделенные компоненты конденсата табачного дыма, непосредственно соединив стеклянную капиллярную колонку с масс-спектрометром. При этом они добились четкого разделения фенантрена, антрацена, флуорантрена, пирена, кризена, перилена, бензпирена, коронена и углеводородов C_{14} , 16, 18, 20, 22, 24, 28, 32, 34. Кроме того, была разделена стандартная смесь лимонена, фурфуроилового спирта, никотина и фенола.

Онуска и Комба [7] добились прекрасного разделения смеси полициклических ароматических углеводородов на стеклянной капиллярной колонке с сильно «ворсистой» внутренней поверхностью (рис. 13.2).

Рёрааде [8] анализировал дым сигарет на стеклянной капиллярной колонке ОНС размерами 0,2 мм × 9,6 м, а Гроб [9] добился прекрасного



Темпера-
тура, °C

Время,
мин

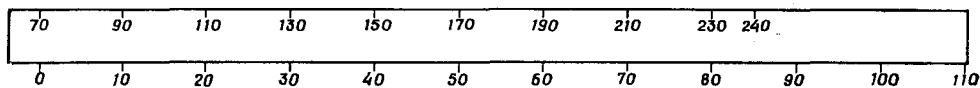


РИС. 13.1. Хроматограммы экстрактов марихуаны, полученной из трех разных источников.

Стекло́нная капиллярная колонка размерами 0,26 мм × 11 м с неподвижной жидкой фазой SE 52. (Перепечатано с разрешения из работы Novotny et al. [11]. Copyright by the American Chemical Society.)

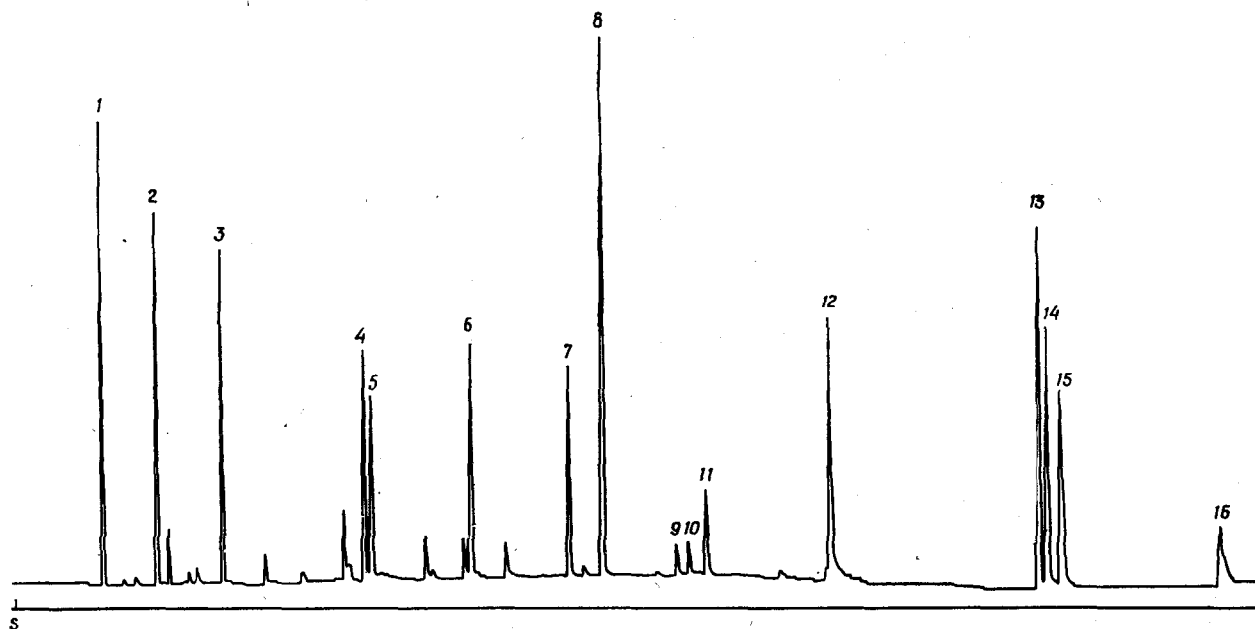


РИС. 13.2. Хроматограмма полициклических ароматических углеводородов. Стеклянная капиллярная колонка с неподвижной жидкой фазой OV3.

Температуру колонки программировали в интервале 60—230 °C со скоростью 2° в 1 мин.

1—бифенил; 2—аценафталин; 3—флуорен; 4—фенантрен; 5—антрацен; 6—9-метилфенантрен; 7—флуорантрен; 8—пирен; 9—бензо(а)флуорен; 10—бензо(б)флуорен; 11—1-метилпирен; 12—трифенилен; 13—бензо(е)пирен; 14—бензо(а)пирен; 15—перилен; 16—дибензо(а, с) антрацен.



РИС. 13.3. Хроматограмма фракции табачного дыма, полученная на стеклянной капиллярной колонке. (From Roegaade [8]; reprinted by permission of the copyright owner.)

разделения фракции табачного дыма (рис. 13.3) на стеклянной капиллярной колонке типа ОНС размерами 0,32 мм $\times$ 145 м с неподвижной жидкой фазой эмульфор ON 870.

Для анализа карбонильных соединений, содержащихся в табачном дыме и выхлопных газах автомобилей, Хосика и Таката [10] получали 2,4-динитрофенилгидразоновые производные, которые затем разделяли на стеклянной капиллярной колонке размерами 0,25 мм $\times$ 20 м с неподвижной жидкой фазой SF 96. По их сообщению, за исключением производных *n*-валеральдегида и изобутилметилкетона, пики которых перекрывались, а также *o*- и *m*-толвальдегидных производных, которые были плохо разделены, наблюдалось полное разделение 2,4-динитрофенолгидразоновых производных десяти алифатических альдегидов, восьми алифатических кетонов и четырех ароматических альдегидов.

В работе [11] был описан специфический метод анализа проб марихуаны «по отпечаткам пальцев». Пробу экстрагировали циклогексаном по методу Сокслета и промывали экстракты нитрометаном. Промытые экстракты сушили досуха в вакууме, растворяли в дихлорметане и концентрировали при помощи короткой вспомогательной колонки. Летучие компоненты пробы анализировали на стеклянной капиллярной

колонке типа НС размерами 0,26 мм × 11 м с неподвижной жидкой фазой SE 52. Как сообщалось, хроматограммы оказались воспроизводимыми, и были продемонстрированы существенные различия между турецкой и мексиканской марихуаной. Заметно различались хроматограммы проб мексиканской марихуаны, выращенной в Мексике и в шт. Индиана (США).

13.3. АНАЛИЗ АМИНОКИСЛОТ

Применимость газовой хроматографии на стеклянных капиллярных колонках для анализа производных аминокислот изучали несколько исследователей. Дейл [12] сообщил о том, что хорошими возможностями обладают фенилтиогидантоиновые производные, хотя очень полезны и триметилсилильные производные. Была продемонстрирована также возможность хроматографического анализа некоторых ацетилированных фенилтиогидантоиновых производных, которые не удавалось анализировать на колонках из нержавеющей стали. Кроме того, Дейл добился приемлемого разделения метиловых эфиров N-пивалиламинокислот на стеклянной капиллярной колонке со смесью неподвижных жидких фаз XE 60 и FFAP.

На короткой стеклянной капиллярной колонке малого диаметра со смесью жидких фаз OV 101 и OV 225 Эйм и Шоквист [13] обеспечили разделение силилированных метилтиогидантоиновых (МТН) производных аминокислот. При условии превращения цистеинильных и аргинильных остатков в соответствующие S-метилцистеинильные и орнитильные производные удавалось в одном цикле разделить соответственно 20 аминокислот. Некоторые производные давали типичные двойные хроматографические пики, причем авторы обнаружили, что такие пики можно использовать для диагностики. Так, двойной хроматографический пик давал изолейцин, что было связано с образованием МТН-алло-изолейцина в реакции силинизации. Наилучшим было разделение при малых скоростях программирования температуры колонки,

однако при этом наблюдалось частичное разложение производных определенных аминокислот и иногда полностью пропадал хроматографический пик производного гистидина. При больших скоростях программирования разделение ухудшалось, но уменьшалось и разложение.

Кавадоре и сотр. [14] применяли стеклянную капиллярную колонку с неподвижной жидкой фазой FFAP для разделения метиловых эфиров бензоильных и пивалильных производных аминокислот, а Шомбург и Хусман [15] продемонстрировали разделение эфиров раценатов аминокислот на специально приготовленной неподвижной жидкой фазе.

13.4. ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ВЕЩЕСТВА

Рийкс и Крамерс [16] опубликовали данные по разделению смеси барбитуратов на стеклянной насадочной колонке, содержащей смесь неподвижных жидких фаз OV 17 и OV 225 на твердом носителе газ-хром Q. В стандартную смесь, которую удалось четко разделить, входили апробарбитал, амобарбитал, секобарбитал, гексобарбитал, браллобарбитал, гептобарбитал и гептабарбитал. Те же авторы проводили разделения и на другой микронасадочной колонке с жидкой фазой OV 101 и гидрооксидом калия в качестве твердого носителя. Стандартная смесь, которая была также хорошо разделена, состояла из метил-, этил-, изопропил-, метилэтил-, бутил- и метилизопропиламетамин.

На стеклянной колонке типа ОНС Шомберг и Хусман разделяли смесь циклопентамин, пропилгекседрина, метамфетамина, амфетамина, мефентермина, фендиметразина, эфедрина, фенметразина, фенилпропаноламина и бензфетамина, а также смесь фендиметразина, эфедрина, фенметразина, фенилпропаноламина, бензфетамина, ксилометазолина, тетрагидрозолина, кофеина, кокаина, нафтазолина и оксиметазолина.

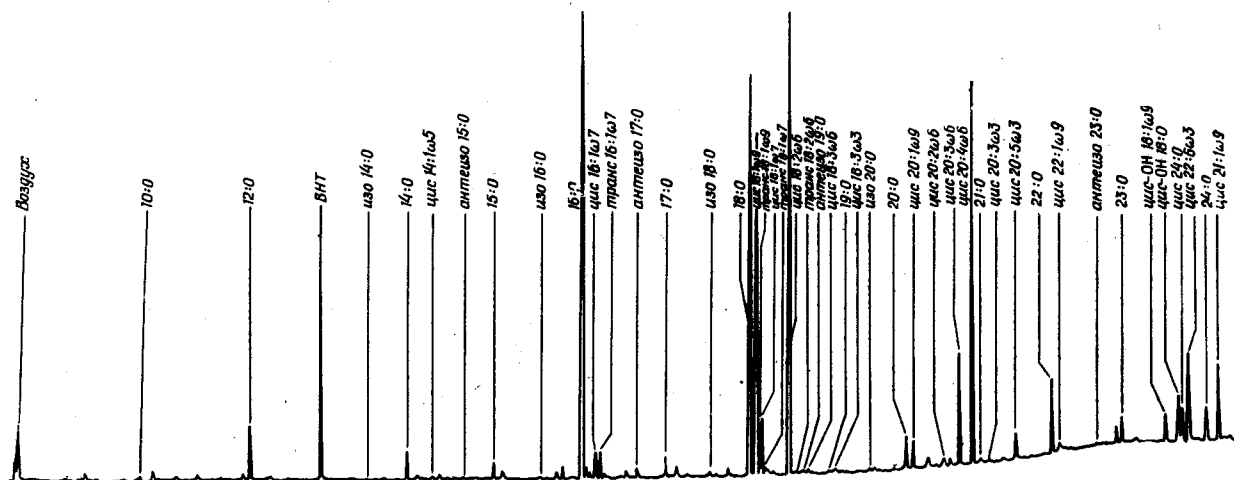
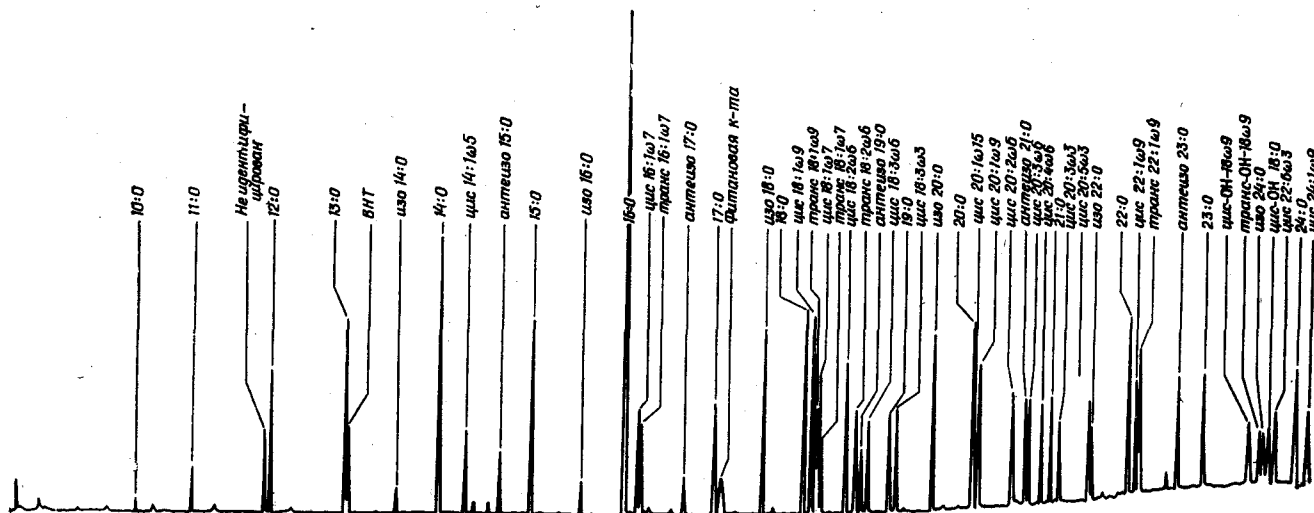


РИС. 13.4. Хроматограмма стандартной смеси метиловых эфиров жирных кислот.

Стеклокапиллярная колонка длиной 50 м с неподвижной жидкой фазой FFAP. Температуру колонки программировали в интервале 95–198 °C со скоростью 1° в 1 мин. Газ-носитель — водород. (From Yaeqer et al. [18]; reprinted by permission of the copyright owner.)

13.5. АНАЛИЗ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

Для анализа смесей жирных кислот, содержащих в различной степени ненасыщенные компоненты и изомеры, особенно важна высокая эффективность разделения, которую можно достигнуть на стеклянных капиллярных колонках. Шомбург и Хусман [15] изучали влияние нескольких параметров на разделение жирных кислот от C_{10} до C_{18} , а также метиловых эфиров жирных кислот от C_{18} до C_{26} на стеклянных капиллярных колонках с неподвижными жидкими фазами карбовакс 20 М, а также ДЭГС. Бейдингс и сотр. [17] продемонстрировали разделение метиловых эфиров жирных кислот молочного жира, а Джагер и сотр. [18] достигли очень хорошего разделения метиловых эфиров жирных кислот во всем диапазоне от C_{10} до C_{20} (рис. 13.4). Хорошее разделение сложных смесей жирных кислот получили также Онуска и Комба [7].

13.6. АНАЛИЗ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И НАПИТКОВ

Существует большой интерес к мясным запахам, связываемый обычно с разработкой синтетических запахов, которые можно было бы использовать для приготовления искусственных продуктов питания и тем самым внести вклад в решение мировой проблемы питания. Несмотря на это, попытки синтезировать приемлемые мясные запахи, опираясь на анализ натуральных продуктов, имели ограниченный успех. В недавнем исследовании Шибамото и Расселл [19] использовали модельную систему, состоящую из D-глюкозы, сероводорода и аммиака, которую они выдерживали при температуре 100°C в течение 2 ч. После перегонки с водяным паром продукты реакции экстрагировали дихлорметаном и анализировали на целлюлозно-стеклянной газохроматографической системе с использованием стеклянных капиллярных колонок типа ОНС с неподвижными жидкими фазами карбовакс

20 М и SE 30 (рис. 13.5 и 13.6). Идентификацию вели, используя комбинацию газовый хроматограф — масс-спектрометр (ГХ—МС), в которой стеклянные капиллярные колонки непосредственно были соединены с квадрупольным масс-спектрометром. При этом был получен широкий спектр алифатических и циклических соединений, в том числе серо- и азотсодержащие соединения. Летучие компоненты включали сульфиды, тиолы, тиофены, тиазолы, пиразины и производные фурана. Сообщалось, что некоторые выделенные соединения обладали запахом свежеприготовленного мяса.

В аналогичном анализе консервированной свинины, подвергнутой различной тепловой обработке [20], также были выделены соединения серы и несколько алифатических спиртов.

На стеклянных капиллярных колонках анализировали соединения, определяющие запах нескольких фруктов и в том числе персиков [21] и инжира [22]. Разновидность дыни с оранжевой мякотью, известной под названием «дыня канталупка», анализировали для изучения различий в ее разновидностях [23] (рис. 13.7), процесса ее созревания [24] и схемы биосинтеза соединений, определяющих ее запах [25]. Бейдингс и сотр. [17] получили очень хорошее разделение смесей летучих соединений, определяющих запах (источник запаха не был обнаружен), состоящих в основном из альдегидов, эфиров и кетонов; они использовали стеклянные капиллярные колонки с неподвижной жидкой фазой SE 30 и карбонизированные колонки с неподвижной жидкой фазой UCON HB 5100.

Для выделения летучих веществ пива [26] их увлекали потоком азота в ловушку с пористым полимером (разд. 11.10). Затем полученный концентрат выводили из ловушки и хроматографировали на стеклянных капиллярных колонках.

Стеклянные колонки типа НС применяли и для анализа ароматических компонентов вин и фруктов [21], а также эфирных масел черного перца [27], лимона [28] и калифорнийского перцевого дерева *Schinus molle* [29].

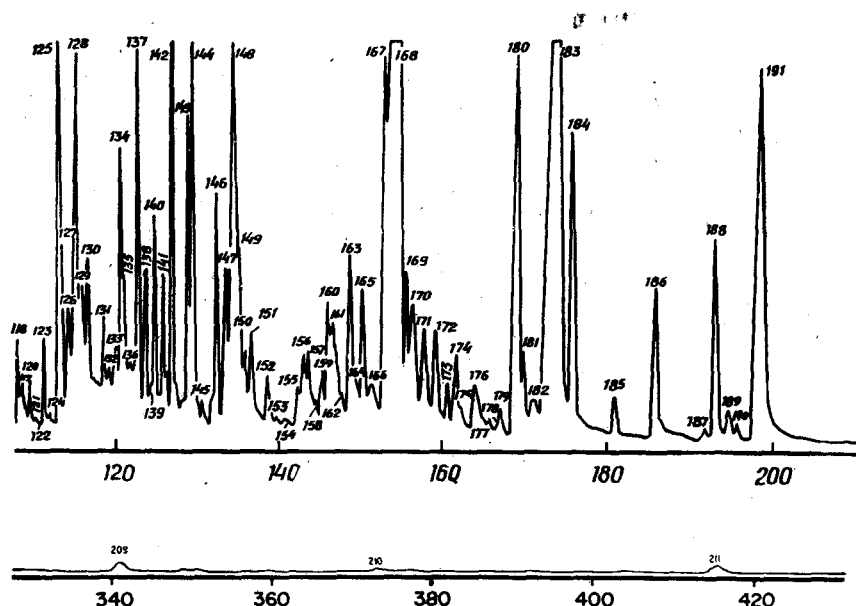
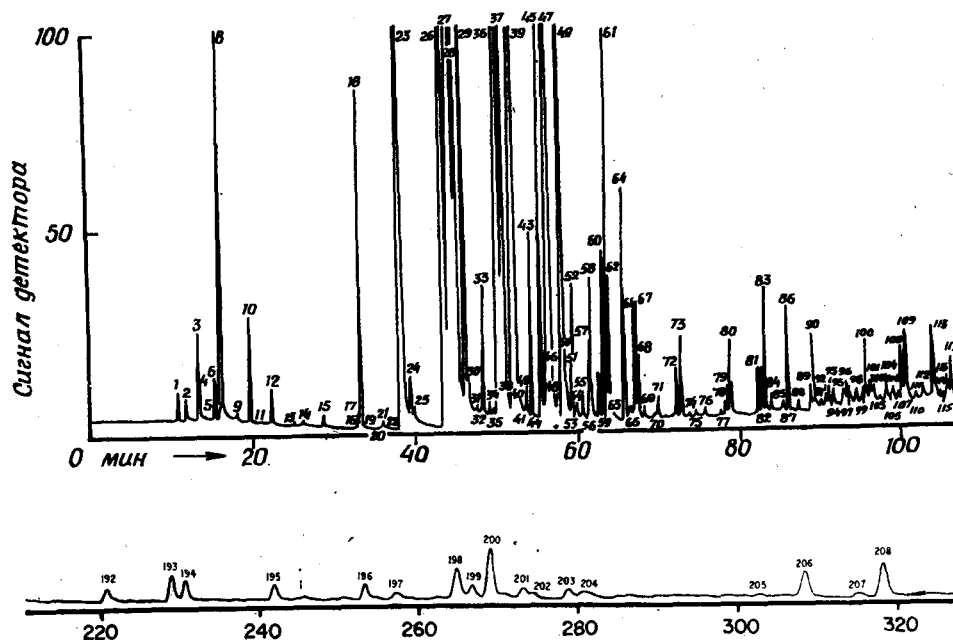


РИС. 135. Хроматограмма летучих веществ из системы, моделирующей запах мяса.

Продукты реакции глюкозы и аммиака анализировали на стеклянной капиллярной колонке размерами 0,25 мм × 100 м с неподвижной жидкой фазой карбовакс 20 М. Температуру колонки программировали в интервале 70–170 °С со скоростью 1° в мин. (С разрешения Shibamoto, Ogawa and Company, Tokyo.)

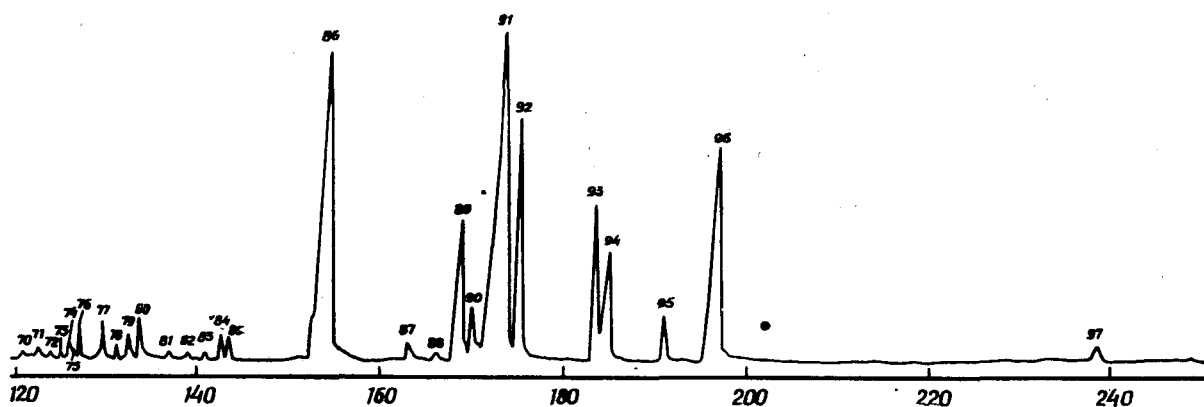
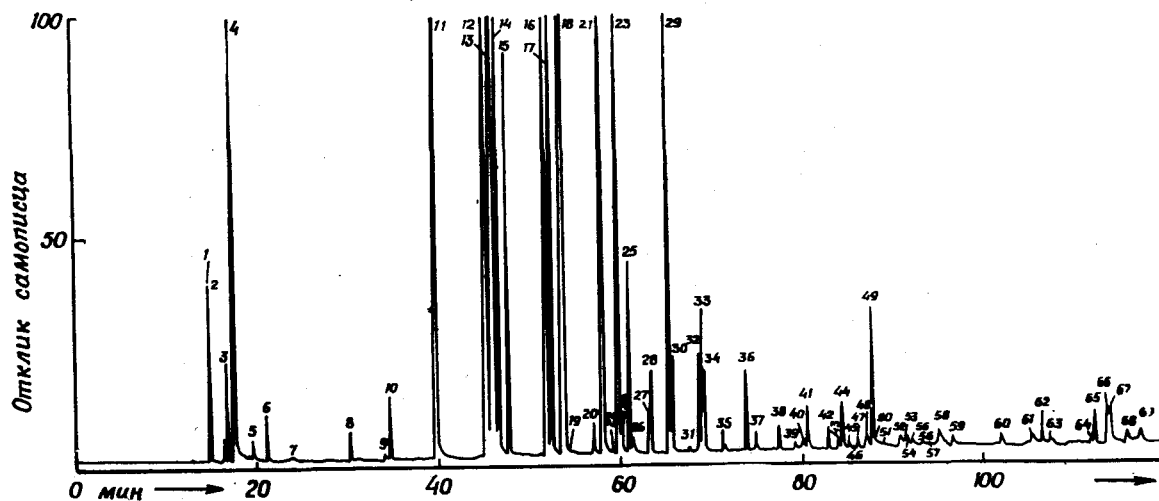


РИС. 13.6. Хроматограмма летучих веществ из системы, моделирующей запах мяса.

Продукты реакции сульфида водорода, аммиака и глюкозы анализировали на стеклянной капиллярной колонке размерами 0,25 мм×100 м с неподвижной жидкой фазой карбовакс 20 М. Температуру колонки программировали в интервале 70—170 °С со скоростью 1° в 1 мин. (Из работы [23]. Reprinted by permission of the copyright owner.)

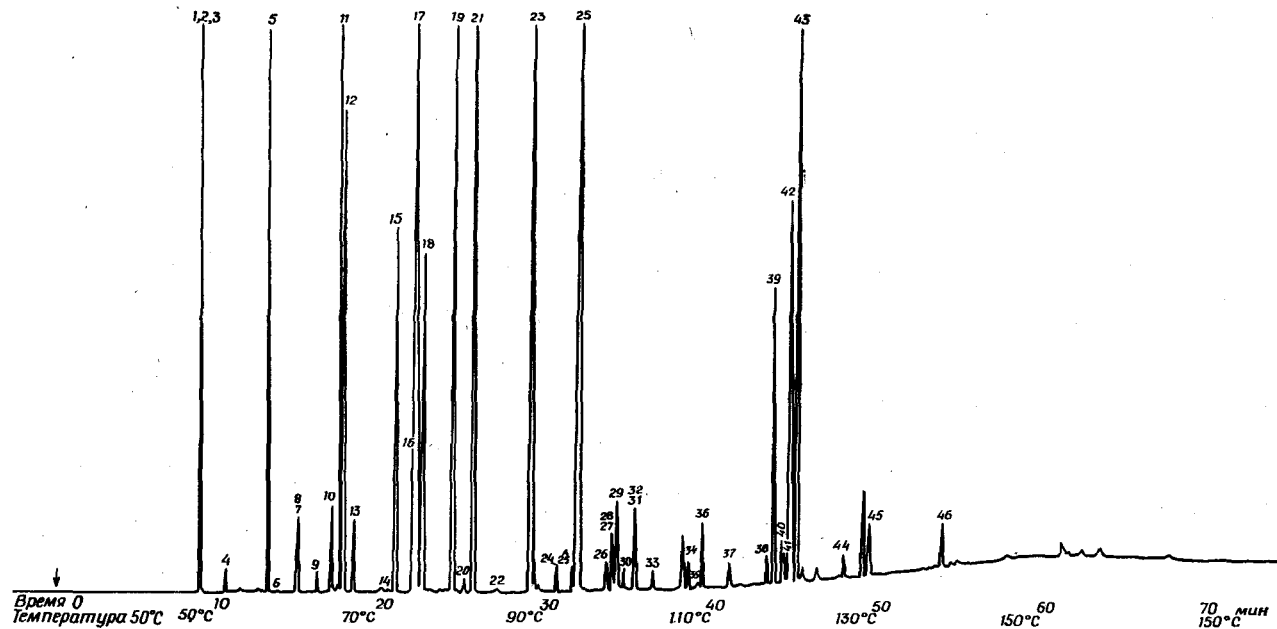


РИС. 13.7. Хроматограмма летучих веществ дыни канталупки, полученная на стеклянной капиллярной колонке размерами 0,25 мм $\times$ 80 м с неподвижной жидкой фазой карбовакс 20 М.

13.7. ПЕСТИЦИДЫ

В то время как стеклянные капиллярные колонки уже применяют в нескольких областях, большинство анализов хлорированных пестицидов и других аналогичных соединений продолжают вести на насадочных колонках. В нескольких исследованиях показано, что большая инертность стеклянных открытых колонок в сочетании с их гораздо более высокой эффективностью делают эти колонки наилучшим инструментом и для исследования пестицидов.

Как отмечали Франкен и Руттен [30], для удовлетворительного анализа пестицидов требуется в той или иной степени дезактивировать даже стеклянные колонки типа НС. Наилучшие результаты эти исследователи получили, покрыв стенки колонки пленкой средней толщины неполярного материала; при этом они добились хорошего разделения смесей синтетических пестицидов.

Необходимость дезактивации признали также Шульте и Эккер [31]. На внутренние стенки капиллярной колонки они наносили толстый слой ВТРРС; для этого они погружали колонку в водяную баню с температурой 50°C и пропускали сквозь нее 1%-ный раствор ВТРРС в дихлорметане. Избыток ВТРРС вымывали из колонки растворителем при комнатной температуре, в результате чего на стенках колонки оставался тонкий слой соли фосфония. После этого динамическим способом в колонку наносили слой неподвижной жидкой фазы SE 30, OV 101 или дексил 300. Авторы сообщали о получении ими очень хороших результатов разделения нескольких хлорированных углеводородных пестицидов.

Бейдингс и сотр. [17] продемонстрировали достаточно хорошее разделение стандартных смесей хлорзамещенных пестицидов на стеклянной колонке типа НС размерами 0,7 мм × 24 м с пленкой неподвижной жидкой фазы SE 30 толщиной 1 мкм. Качество разделения значительно улучшилось при переходе к колонке размерами 0,9 мм × 8 м с неподвижной жидкой фазой ДЭГС — фосфорная кислота (3:1).

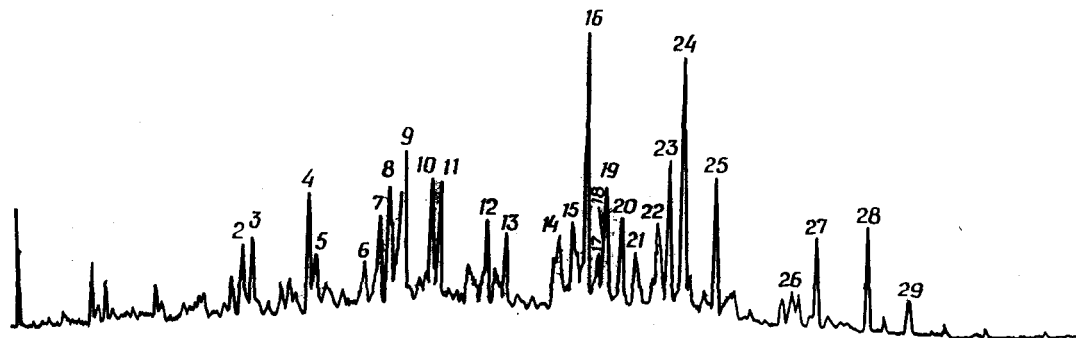


РИС. 13.8. Хроматограмма токсафена, полученная на стеклянной капиллярной колонке. (Из работы [33].
Copyright by the American Chemical Society.)



РИС. 13.9. Хроматограмма материала Арохлор 106, полученная на стеклянной капиллярной колонке размерами 0,25 мм $\times$ 30 м с неподвижной жидкой фазой SE 30. (С разрешения Р. Taylor, California Analytical Laboratories.)

Холмстед [32] применял стеклянные капиллярные системы для того, чтобы следить за продуктами разложения в нормальных условиях инсектицида мирекс (додекахлолопентацикло [5.3.0, 0^{2,6}.0^{3,9}.4,8] декан).

Сале и Касида [33] сообщили о том, что при анализе методом газовой хроматографии на стеклянных капиллярных колонках каждая из восьми различных проб токсафена (приготовленных путем хлорирования камфена и других терпенов) давала одни и те же 29 основных хроматографических пика в почти

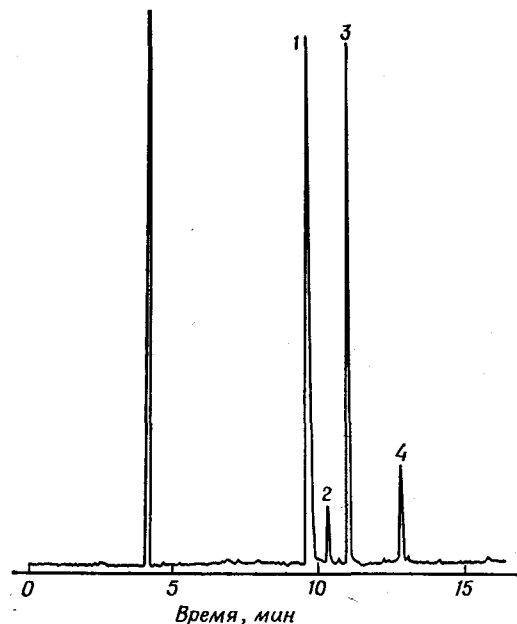


РИС. 13.10. Хроматограмма пестицидов, выделенных из куриного яйца.

Стеклянная капиллярная колонка размерами 0,25 мм × 30 м с неподвижной жидкой фазой SE 30. (С разрешением P. Taylor, California Analytical Laboratories.)

идентичных соотношениях (рис. 13.8). Они применяли колонки типа ОНС размерами 0,25 мм × 30 м с неподвижной жидкой фазой SE 30 и обнаружили, что могут обеспечить гораздо более подробный анализ состава токсафена.

Имеется сообщение об улучшенном разделении полихлорзамещенных дифенилов, полученном на стеклянных капиллярных колонках с программированием температуры [34] (рис. 13.9).

Бьюсер [35] изучал возможность применения стеклянных капиллярных колонок с неподвижными жидкими фазами OV 17, OV 101 и силар 10 С для разделения полихлорзамещенных дибензо-*n*-диоксинов

и бензофуранов. Он отметил, что существенно лучшее разделение этих соединений обеспечивают колонки малого диаметра с тонким слоем неподвижной жидкой фазы, которые позволяют работать при малых температурах. Он также отметил превосходство стеклянных капиллярных колонок в анализах этого типа. Этот вывод согласуется с наблюдениями Крупчика и сотр. [36], которые сообщили о том, что капиллярные колонки из натрий-кальциевого стекла, протравленные газообразным HCl и покрытые тонкой пленкой неподвижной жидкой фазы OV 101, обладают адсорбционными свойствами, которые обеспечивают высокие значения индексов удерживания. Такие колонки способны к разделению пар полихлорзамещенных дифенилов, которые не разделяются на колонках с более толстыми пленками неподвижной фазы (рис. 13.10).

13.8. АНАЛИЗ САХАРИДОВ

Газовую хроматографию на стеклянных капиллярных колонках применяли с целью выявить распределение оксиэтильных групп в глюкозных звеньях, образующихся в реакции оксида этилена и крахмала.

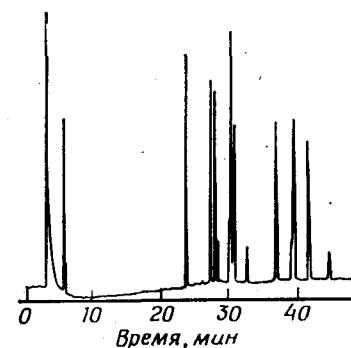


РИС. 13.11. Хроматограмма производных дисахаридов, полученная на стеклянной капиллярной колонке. (Из работы [39]. Reprinted by permission of the copyright owner.)

Пробу гидролизovali, силанизовали и получали полное разделение шести монозамещенных и двенадцати дизамещенных аномерных форм. Более высокие производные вплоть до пентазамещенных продуктов делили на группы, что позволяло вести количественное определение степени замещения с высокой точностью [37].

Шафранек и сотр. [38] сообщили о разделении смесей производных моносахарида на стеклянной капиллярной колонке с неподвижной жидкой фазой SE 30, к которой был примешан плавленый диоксид кремния (силанокс 101). Шомбург и Хусман разделили силанизованные продукты деструкции (по соединениям C₆) глюкозы, облученной γ -лучами, на стеклянных колонках типа HC [15]. В работе [39] сообщается о разделении триметилсилильных и метоксиламинтриметилсилильных производных смеси восьми дисахаридов (рис. 13.11).

13.9. АНАЛИЗ СТЕРОИДОВ

Было продемонстрировано разделение холестерина, кампестерина, стигмастерина и β -ситостерина на колонке размерами 0,25 мм $\times$ 40 м с неподвижной жидкой фазой карбовакс 20 M при постоянной температуре 260 °C; силанизованные производные прегнандиола, андростерона, этиохолаanolона, эпиандростерона, прегнантриола и холестерина разделяли на несколько более короткой колонке при температуре 270 °C [15]. Сандра и сотр. [40] разделяли разнообразные метоксиламинтриметилсилильные производные стероидов мочи (рис. 13.12).

Новотны разделял сложные смеси стероидов плазмы, используя их метокситриметилсилильные производные. Перед анализом он фракционировал их на разные сопряженные группы [41].

Как сообщили Мадани и сотр. [42], покрытые метилсилоксаном стеклянные незаполненные колонки дают очень хорошие результаты в анализе гормональных стероидов (рис. 13.13). Гидролизом дихлордиме-

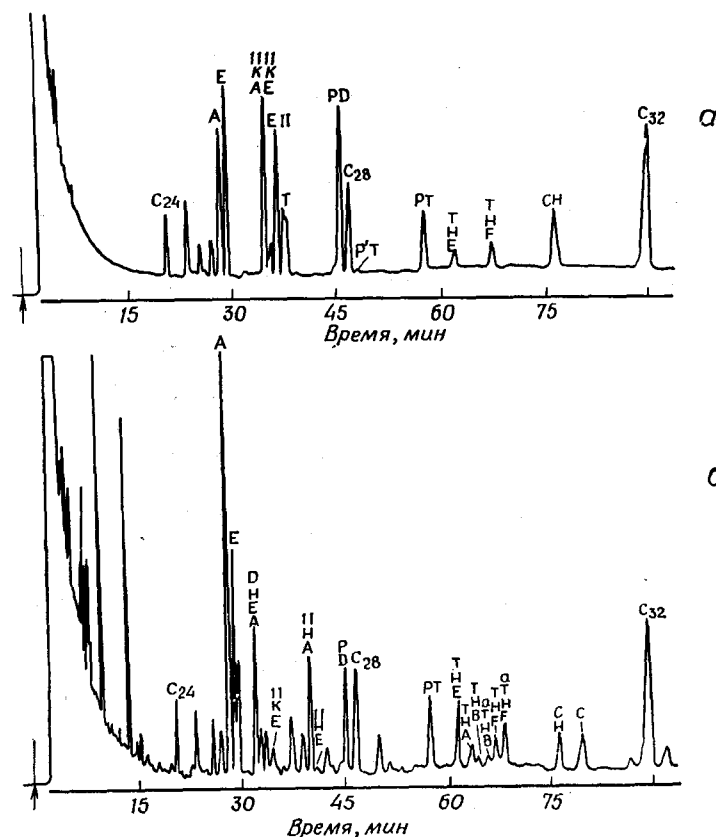


РИС. 13.12. Хроматограммы стандартной смеси стероидов (а) и стероидов мужской мочи (б), полученные на стеклянной капиллярной колонке.

А — андостерон; Е — этиохолаanolон; ДНЕ — дегидроэтио А; 11-КА — 11-кето А; 11-КЕ — 11-кето Е; 11-ОН-А — 11- β -окси А; 11-ОН-Е — 11- β -окси Е; PD — прегнандиол; PT — прегнантриол; TNE — тетрагидрокортисон; THF — тетрагидрокортисол; Cort — кортизон-20- α ; β -Cort — кортизон-20- β ; CBU — холестерилбутират; THB — 4-метил-2,6-дитретбутилфенол (антиоксидант). (Из работы [40]. Reprinted by permission of the copyright owner.)

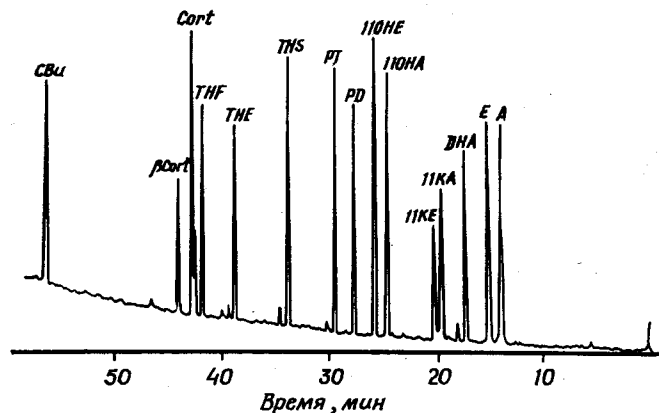


РИС. 13.13. Хроматограмма стандартной смеси стероидов, полученная на стеклянной капиллярной колонке.

Список сокращений см. в подписи к рис. 13.12. (Из работы [42] Reprinted by permission of the copyright owner.)

тилсилана готовят силоксановую полимерную смесь, которую затем наносят на предварительно протравленные стенки колонки реакцией, катализируемой основанием; в результате получают высокостабильную неполярную колонку с хорошими хроматографическими характеристиками. Авторы продемонстрировали разделения на такой колонке широкого спектра стероидов, стероидов и метаболитов стероидов [42].

13.10. ДРУГИЕ АНАЛИЗЫ

Существуют различные другие анализы на стеклянных незаполненных капиллярных колонках, которые не охвачены рассмотренными выше категориями. К ним относятся анализ состава природного газа [43], душистых масел [15], моторного мазута [9], сточных вод [9], запаховых компонентов пряностей [1, 9], 2,4-динитрофенилгидразонов [10, 44], а также быстрое разделение низкомолекулярных углеводов [16] (рис. 13.14 и 13.15).

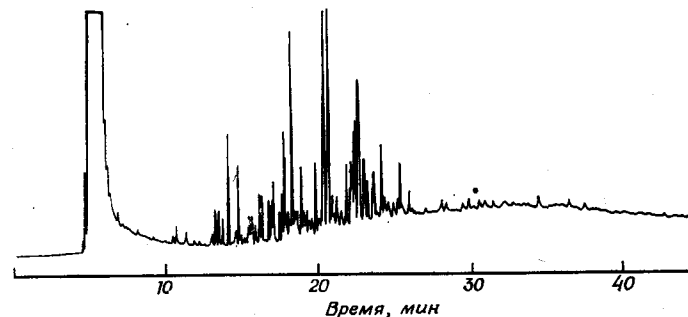


РИС. 13.14. Хроматограмма органических веществ из проб поверхностных сточных вод, полученная на стеклянной капиллярной колонке. (С разрешения фирмы Hewlett-Packard, Inc.).

Без деления потока; проба—2 мкл. Стеклянная колонка типа НС, 50 м × 0,32 мм с жидкой фазой OV 101; газ-носитель — гелий, давление 0,72 атм.

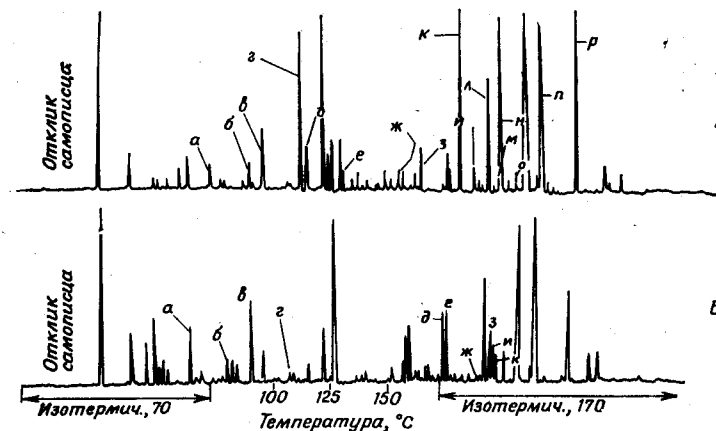


РИС. 13.15. Хроматограммы летучих веществ запаха двух разновидностей розы, полученные на стеклянной капиллярной колонке.

А: а—сабизен; б—α-терпинен; в—лимонен; г—п-цимен; д—терпинолен; е—неизвестное вещество; ж—цитронеллол; з—линеолол; и—α-терпинеол; к—цитронеллилацетат; л—гераниол; м—геранилпропионат; н—геранилацетат; о—нерол; п—гераниол; р—фенилэтиловый спирт.

Б: а—α-пинен; б—мирцен; в—камфен; г—транс-β-оцимен; д—цитронеллиформат; е—терпинен-4-ол; ж—геранилформат; з—гермакрен D; и—цитронеллол; к—геранилацетат.

Литература

1. Novotny M., McConnell M. L., Lee M. L., J. Agric. Food Chem., 22, 765 (1974).
2. Lee M. L., Hites R. A., Anal. Chem., 48, 1890 (1976).
3. Lee M. L., Novotny M., Bartle K. D., Anal. Chem., 48, 405 (1976).
4. Novotny M., McConnell M. L., Lee M. L., J. Agric. Food Chem., 22, 765 (1974).
5. Lee M. L., Novotny M., Bartle K. D., Anal. Chem., 48, 1566 (1976).
6. Rapp U., Schröder U., Meier S., Elmenhorst M., Chromatographia, 8, 474 (1975).
7. Onuska F. L., Comba M. E., J. Chromatogr., 126, 133 (1976).
8. Roeraade J., Chromatographia, 8, 511 (1975).
9. Grob K., Chromatographia, 8, 423 (1975).
10. Hoshika Y., Takata Y., J. Chromatogr., 120, 379 (1976).
11. Novotny M., Lee M. L., Low C., Raymond A., Anal. Chem., 48, 24 (1976).
12. Deyl Z., J. Chromatogr., 127, 91 (1976).
13. Eyem J., Sjquist S., Anal. Biochem., 52, 255 (1973).
14. Cavadore J. C., Nota G., Prota G., Previero A., Anal. Biochem., 60, 608 (1974).
15. Schomburg G., Husmann H., Chromatographia, 8, 517 (1975).
16. Rijka J. A., Cramers C. A., Chromatographia, 8, 482 (1975).
17. Badings H. T., van der Pol. J. J., Wassink J. G., Chromatographia, 8, 440 (1975).
18. Jaeger H., Klör H., Blos G., Ditschuneit H., J. Lipid Res., 17, 185 (1976).
19. Shibamoto T., Russell G. F., J. Agric. Food Chem., 24, 843 (1976).
20. Uchman W., Jennings W. G., J. Food Chem., 2, 135 (1977).
21. Jennings W. G., Filsoof M., J. Agric. Food Chem., 25, 440 (1977).
22. Jennings W. G., J. Food Chem. (in press).
23. Yabumoto K., Jennings W. G., Yamaguchi M., J. Food Sci., 42, 32 (1977).
24. Yamaguchi M., Hughes D. L., Yabumoto K., Jennings W. G., Sci. Hortic., 6, 59 (1977).
25. Yabumoto K., Yamaguchi M., Jennings W. G., Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm., 5, 53 (1977).
26. Jennings W. G., Yabumoto K., Wohleb R. H., J. Chromatogr. Sci., 12, 344 (1974).
27. Jennings W. G., Wohleb R. H., Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm., 3, 33 (1974).
28. Kugler E., Langlais R., Chromatographia, 8, 468 (1975).
29. Jennings W. G., Bernhard R. A., Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm., 4, 95 (1975).
30. Franken J. J., Rutten G. A. F. M., in «Gas Chromatography 1972» (S. G. Perry, ed.), Applied Science, New York and London, 1973.
31. Shulte E., Acker L., Z. Anal. Chem., 268, 260 (1974).
32. Holmstead R., J. Agric. Food Chem., 24, 620 (1976).
33. Saleh M. A., Casida J. E., J. Agric. Food Chem., 25, 63 (1977).
34. Mourits J. W., Merkus H. G., de Galan L., Anal. Chem., 48, 1557 (1976).
35. Buser H. R., Anal. Chem., 48, 1553 (1976).
36. Krupcik J., Kristin M., Valachovicova M., Janiga S., J. Chromatogr., 126, 147 (1976).
37. Mourits J. W., Merkus H. G., de Galan L., Anal. Chem., 48, 1557 (1976).
38. Szafranek J., Pfaffenberger C. D., Horning E. C., J. Chromatogr., 88, (1974).
39. Adam S., Jennings W. G., J. Chromatogr., 115, 218 (1975).
40. Sandra P., Verzele M., VanLuchene E., Chromatographia, 8, 499 (1975).
41. Novotny M., Maskarinec M. P., Steverink A. T., Farlow R., Anal. Chem., 48, 469 (1976).
42. Madani C., Chambaz E. M., Rigaud M., Durand J., Chebroux P., J. Chromatogr., 126, 161 (1976).
43. Goretti G. C., Liberti A., Nota G., Chromatographia, 8, 486 (1975).
44. Flückiger R., Chromatographia, 8, 435 (1975).
45. Sirikulvadhanana S., Jennings W. G., Vogel G., Int. Flavours, p. 126 (March/April), 1975.

Приложение I

НОМЕНКЛАТУРА

В газохроматографической терминологии может возникнуть значительная путаница, поскольку разные авторы используют различные символы для обозначения одной и той же величины или, что еще хуже, один и тот же символ для обозначения разных величин. Так, Литтлвуд [1] символом β обозначает константу распределения, а Эттре [2] тем же символом обозначает соотношение объемов подвижной и неподвижной фаз в колонке.

Насколько возможно, терминология, принятая в данной книге, совпадает или аналогична рекомендациям Международного союза теоретической и прикладной химии [3] с несколькими небольшими модификациями и некоторыми необходимыми добавлениями.

По-видимому, уместно остановиться здесь на вопросах, связанных с измерениями параметров удерживания. Результаты этих измерений, так же как и результаты измерений мертвого объема и ширины хроматографического пика, можно выражать в единицах времени, в единицах длины по нулевой линии хроматограммы или в единицах объема. Несмотря на то что в большинстве теоретических рассуждений предпочитают пользоваться единицами объема, единицами времени или длины удобнее пользоваться в большинстве практических ситуаций. Если скорость движения ленты самописца и скорость потока газа-носителя постоянны, то объем газа пропорционален времени или расстоянию, измеряемому по нулевой линии хроматограммы. Поскольку в зубчатых передачах многих

самописцев имеется люфт, результаты измерений в единицах длины по нулевой линии самописца могут оказаться ненадежными. Это важно учитывать особенно в тех случаях, когда ленту самописца протягивают вручную, поскольку затем после включения самописца мотор из-за наличия люфта не сразу начинает протягивать ленту.

$\alpha_{A/B}$ — фактор разделения

Он определяется как отношение коэффициентов распределения двух веществ А и В, измеренных в идентичных условиях. Можно показать, что $\alpha_{A/B} = t'_{R(B)}/t'_{R(A)}$. Принято, что величина α всегда больше 1.

β — отношение объемов фаз

Отношение объема газовой фазы в колонке к объему неподвижной фазы

$$\beta = V_G/V_L$$

d_f — толщина пленки

Толщину пленки неподвижной жидкой фазы обычно измеряют в микронах.

h — высота, эквивалентная теоретической тарелке (ВЭТТ)

Длину колонки, деленную на число эффективных теоретических тарелок, обычно выражают в миллиметрах; величину h , соответствующую оптимальной скорости газового потока по Ван-Деемтеру u_{opt} , иногда обозначают символом h_{min} .

I — высота, эквивалентная эффективной теоретической тарелке (ВЭЭТТ)

Длину колонки, деленную на число эффективных теоретических тарелок, обычно выражают в миллиметрах; величину H , соответствующую оптимальной

скорости газового потока по Ван-Деемтеру u_{opt} , можно обозначать символом H_{min} .

I — индекс удерживания

Число, получаемое логарифмической интерполяцией, связывающее исправленный удерживаемый объем компонента A с исправленными удерживаемыми объемами нормальных (линейных) углеводородов. Каждому нормальному углеводороду присвоен по определению индекс удерживания, равный числу атомов углерода в его молекуле, умноженному на 100.

$$I_A = 100N + 100n \frac{\lg V'_{R(A)} - \lg V'_{R(N)}}{\lg V'_{R(N+n)} - \lg V'_{R(N)}},$$

где $V'_{R(N+n)}$ и $V'_{R(N)}$ — исправленные удерживаемые объемы линейных углеводородов с $N+n$ и N атомами углерода в молекуле, такие, что $V'_{R(N)} < V'_{R(A)} < V'_{R(N+n)}$.

На практике большинство исследователей пользуются временами удерживания и вместе с индексом удерживания учитывают природу неподвижной жидкой фазы и температуру колонки:

$$I_b^a = 100N + 100n \frac{\lg t'_{R(A)} - \lg t'_{R(N)}}{\lg t'_{R(N+n)} - \lg t'_{R(N)}},$$

где I_b^a — индекс удерживания на данной неподвижной жидкой фазе a при температуре b , а исправленные времена удерживания аналогичны указанным выше удерживаемым объемам.

k — коэффициент емкости (извлечения)

Относительная мера продолжительности нахождения вещества в неподвижной фазе по сравнению с продолжительностью его нахождения в газовой фазе: $k = t'_R/t_M$. Иногда его называют коэффициентом извлечения.

K_D — константа распределения

Отношение концентрации определенного компонента в неподвижной фазе к его концентрации в подвижной фазе в равновесных условиях. Обе концентрации приводят к единице объема соответствующей фазы. Это название рекомендуется вместо названия *коэффициент распределения*, имеющего тот же смысл [3].

L — длина колонки

Полная длина той части колонки, которая покрыта пленкой неподвижной жидкой фазы; в случае стеклянной капиллярной колонки это участок от входного конца колонки до детектора, исключая любые соединительные трубки.

n — число теоретических тарелок

Число, которым характеризуют качество работы колонки и которое вычисляют по формуле

$$n = 16 \left(\frac{t_R}{w} \right)^2 = 5,54 \left(\frac{t_R}{w_{0,5}} \right)^2 \quad (\text{разд. 1.3})$$

N — число эффективных теоретических тарелок

Число, которым характеризуют качество работы колонки и которое вычисляют по исправленным величинам удерживания; в этом числе учитывается мертвый объем хроматографической системы ($t'_R = t_R - t_M$).

$$N = 16 \left(\frac{t'_R}{w} \right)^2 = 5,54 \left(\frac{t'_R}{w_{0,5}} \right)^2.$$

n_{actual} — действительное число теоретических тарелок

Число, характеризующее качество работы всей хроматографической системы; его определение опирается на вычисление величин $w_{0,5}$ для гипотетических

веществ с коэффициентами емкости $k=0$ и $k=10$ (т. е. b_0 и b_{10}) по экспериментально построенному графику зависимости $\omega_{0,5}$ от k (разд. 6.3):

$$n_{\text{actual}} = 5,54 \left(\frac{t'_{R(10)}}{b_{10} - b_0} \right)^2$$

R_s — критерий разделения

Величина, характеризующая степень разделения двух компонентов и учитывающая среднюю ширину хроматографических пиков (рис. 1.11):

$$R_s = \frac{t_{R(B)} - t_{R(A)}}{\omega_{0,5(A)} + \omega_{0,5(B)}}$$

r_0 — радиус капилляра

Внутренний радиус, измеряемый обычно оптическим микрометром или микроскопом.

t_m — мертвое время

Время (или расстояние по нулевой линии самописца), требующееся для переноса сквозь колонку несорбирующегося в ней вещества; K эквивалентно времени, соответствующему моменту появления на хроматограмме пика воздуха; мертвое время обычно оценивают, вводя в колонку пробу метана или (разд. 1.2) путем вычислений (разд. 7.2).

t_R — время удерживания

Время (или расстояние по нулевой линии хроматограммы) между моментом ввода пробы и моментом появления максимума хроматографического пика (рис. 1.2). Пик должен быть достаточно симметричным; симметричность и положение пика на хроматограмме могут исказиться вследствие неправильного ввода пробы, недостаточно высокой температуры входного устройства или самой колонки, наличия адсорб-

ции, приводящей к расширению заднего фронта пика, или из-за перегрузки колонки пробой.

t'_R — исправленное время удерживания

Разность между временем удерживания и мертвым временем; таким образом, исправленное время удерживания эквивалентно времени, в течение которого компонент находится в неподвижной фазе.

TZ — число разделений

Мера эффективности колонки, учитывающая степень разделения двух членов гомологического ряда; в ней учитываются острота хроматографических пиков и относительные времена удерживания соответствующих соединений:

$$TZ = \frac{t_{R(B)} - t_{R(A)}}{\omega_{0,5(A)} + \omega_{0,5(B)}} - 1.$$

$\bar{u}$ — средняя линейная скорость потока газа-носителя

Определяется обычно как частное от деления длины колонки, выраженной в сантиметрах, на время t_m , выраженное в секундах.

u_{opt} — оптимальная скорость газового потока

Скорость потока, соответствующая минимуму кривой Ван-Деемтера (рис. 1.13).

ω — ширина хроматографического пика у нулевой линии

Расстояние по нулевой линии хроматограммы, выражаемое в единицах длины (мм) или в единицах времени, от начала хроматографического пика до его конца. Иногда для определения этой величины требуется экстраполяция (рис. 1.2).

$w_{0,5}$ — ширина хроматографического пика на половине высоты

Расстояние, выражаемое в единицах длины или в единицах времени, между центрами (по толщине) проведенных самописцем линий, измеряемое вдоль линии параллельной нулевой линии и расположенной на половине расстояния между нулевой линией и максимумом пика.

Литература

1. Littlewood A. B., «Gas Chromatography», 2nd ed. Academic Press, New York, 1972.
2. Ettre L. S., «Open Tubular Columns in Gas Chromatography», Plenum Press, New York, 1965.
3. Recommendations on Nomenclature for Chromatography, Commission on Analytical Nomenclature, Anal. Chem. Div. Internat. Union Pure Appl. Chem.

Приложение II

НЕПОДВИЖНЫЕ ЖИДКИЕ ФАЗЫ

Из множества имеющихся неподвижных жидких фаз относительно немногими удавалось успешно покрывать стенки стеклянных колонок типа ОНС. Больше число неподвижных жидких фаз можно использовать для колонок типов ОЗПС и ОНПС, и практически любые жидкие фазы пригодны для микронасадочных колонок. Границы рабочего диапазона температур указывает фирма-поставщик, причем эти границы относятся к работе на насадочных колонках. Срок службы колонки, особенно стеклянной типа ОНС, будет существенно больше, если работать при несколько сниженных максимальных температурах (гл. 9). Приведенные в таблицах* константы Мак-Рейнольдса, опирающиеся на соответствующее понятие, введенное Роршнейдером, перепечатаны из работ [1, 2] с разрешения журнала Journal of Chromatographic Science и фирмы Supelco, Inc. В графе таблицы «Замечания» даны «эквивалентные» неподвижные жидкие фазы и ссылки на описания разделений с использованием соответствующих жидких фаз в стеклянных незаполненных колонках. При этом указываются глава и номер ссылки в данной главе; так, (10)2 означает ссылку [2] в гл. 10.

Литература

1. McReynolds W. O., J. Chromatogr. Sci., 8, 685 (1970).
2. Catalog № 10, Supelco, Inc., Bellefonte, Pennsylvania 16823.

* Дополнительные сведения о свойствах неподвижных жидких фаз приведены в кн.: Коцев Н. Справочник по газовой хроматографии. — М.: Мир, 1976.

Неподвижная жидкая фаза	Температура, °C min/max	Константы Мак-Рейнольдса					Замечания
		x'	y'	z'	u'	s'	
Алкатерж Т							
Амин 220	5/180	117	380	181	293	133	
Апиезон L	50/250	32	22	15	32	42	См. SP 21; (3)4, 22
Армин SD	30/75						
Бентон 34	0/180						
7,8-Бензохинолин	55/150						
Бензилцианид (фенилацетонитрил)	25/100						
Бензилцианид — нитрат серебра	0/35						
Бензилдифенил	60/120						
<i>m,m</i> -Бис(2-цианоэтил)формамид	0/125	690	991	853	1110	1000	
Бис(2-этоксипропил)адипат	0/150						
Бис(2-этилгексил)тетрахлорфталат	0/150	112	150	123	168	181	
Бис(2-метоксипропил)адипат	20/100						
Бутандиоладипат	60/225						
Бутандиолсукцинат	50/225	370	571	448	657	611	
Версамид 900	190/275						
Версамид 930	115/150	109	313	144	211	209	
GESE 30 (ГХ)	50/300	015	053	044	064	041	(3)19, (2)29
GESE 52	50/300	032	072	065	098	067	(3) (2)29
GESF 96	0/250	012	053	042	061	037	(3)4, 11, 19
GEXE 60 (цианоэтил) *	0/250	204	381	340	493	367	

1/27*

Галокарбон 10-25	20/100	047	070	108	133	111	
Галокарбон К-352	0/250	047	070	073	238	146	
Галокарбон воск	50/150	055	071	116	143	123	
<i>n</i> -Гексадекан	18/50						
1,2,3,4,5,6-Гексакис(2-цианоэтоксик-логексан)	125/150	567	825	713	978	901	
Гексаметилфосфорамид	0/50						
Гипроза SP 80	0/175	336	742	492	639	727	
Дибутилмалеат	0/50						
Дидецилфталат	10/175	136	255	213	320	235	
Диэтиленгликольадипат (ДЭГА)	0/200	378	603	460	665	658	
Диэтиленгликольсебагинат	80/200						
Диэтиленгликольсукцинат (ДЭГС)	20/200	496	746	590	837	835	(3)5, 16
Ди(2-этилгексил)себагинат	0/125	72	168	108	180	125	
Диоддецилфталат	0/175	84	173	137	218	155	
2,4-Диметилсульфолан	0/50						
Динонилфталат	20/150	83	183	147	231	159	
Диоктилсебагинат	0/125	72	168	108	180	123	
DC 11	0/300	017	086	048	069	056	
DC 200, 500 CSTKS	0/200	016	057	045	066	043	(3)5
DC 200, 12, 500 CSTKS	0/250	016	057	045	066	043	
DC 550	-20/250	074	116	117	178	135	
DC 560 (F60)	0/300	032	072	070	100	068	

* Здесь и далее в скобках указаны некоторые радикалы в мономерных звеньях полимера.

Неподвижная жидкая фаза	Температура, °C min/max	Константы Мак-Рейнольдса					Замечания
		x'	y'	z'	u'	s'	
DC 710	-5/250	107	149	153	228	190	
DC OF 1 (FS 1265)	0/250	144	233	355	463	305	
ECNSS-M	30/200	421	690	581	803	732	
EGSS-X	90/200	484	710	585	831	778	
EGSP-Z		308	474	399	548	549	
JXR силикон	0/300	015	053	045	064	041	См. SP 2100
Игепал CO 880	100/200	259	461	311	482	426	
Игепал CO 990	100/200	298	508	345	540	475	
Карбовакс 400	10/100						(3)16
Карбовакс 600	30/125						
Карбовакс 1000	40/150						
Карбовакс 1500	40/175	347	607	418	626	589	
Карбовакс 1540	50/175	371	639	453	666	641	
Карбовакс 4000	60/200	317	545	378	578	521	
Карбовакс 400 моностеарат	60/200	282	496	331	517	467	
Карбовакс 20 М	60/225	322	536	368	572	510	(3)5, 15, 22, 3, 17, 29
Карбовакс 20 М — терефталевая кислота	60/225	321	537	367	573	520	
Квадрол	0/150	214	571	357	472	489	
Ксиленилцианид (3-циано-о-ксилен)							

<i>n</i> -Лаурил-1-валил- <i>t</i> -бутиламид	60/140						
LAC-1-R-296	0/200	377	601	458	663	655	
LAC-2-R-446	50/200	387	616	471	679	667	
LAC-3-R-728	0/200	502	755	594	849	852	
Неопентилгликольадипат	50/225	234	425	312	402	438	
Неопентилгликольизофталат	0/250						
Неопентилгликольсебацнат	50/225	172	327	225	344	326	
Неопентилгликольсукцинат	50/225	272	469	366	539	474	
β,β -Оксидипропионитрил	0/75						
OV 1, метилкаучук	100/350	016	055	044	065	042	См. SP 2100; (2)29
OV 3 (10% фенила)	0/350	044	086	081	124	088	
OV 7 (20% фенила)	0/350	069	113	111	171	128	
OV 11 (35% фенила)	0/350	102	142	145	219	178	
OV 17 (50% фенила)	0/375	119	158	162	243	202	См. SP 2250; (3)3, (2)29
OV 22 (65% фенила)	0/350	160	188	191	283	253	
OV 25 (75% фенила)	0/350	178	204	208	305	280	
OV 101 (метил) жидкий	0/350	017	057	045	067	043	(3)15, 16, 19, 3
OV 210, трифторпропил	0/275+	146	238	358	468	310	
OV 225, цианопропилфенил	0/265+	228	369	338	492	386	(2)29, (3)16
OV 275	25/250	629	872	763	1106	849	
PPE-21	125/375	232	350	398	413		
Поли-А, поли-1, поли-S-179							
Полиэтиленмин	0/175	322	800		573	524	

Неподвижная жидкая фаза	Температура, °C min/max	Константы Мак Рейнольдса					Замечания
		x'	y'	z'	u'	s'	
PPE-20 (поли-М-феноксиден)	125/375	257	355	348	433		
Полифениловый эфир (5 колец) OS 124	0/200	176	227	224	306	283	
Полифениловый эфир (6 колец) OS 138	0/225	182	233	228	313	293	
Полипропиленгликоль	0/150	128	294	173	264	226	
Полипропиленгликоль—нитрат серебра	0/50						
Полипропиленимин	0/200	122	435	168	263	224	
Поливинилпирролидин (ПВП)	0/225						
Пропиленкарбонат	0/50						
Реоплекс-400 (полиэфир)	0/200	364	619	449	647	671	
Силар 5 CP	0/250	319	495	446	637	531	См. SP 2300; (2)29
Силар 10 CP	0/250	520	757	660	942	800	См. SP 2340 (2)29, (3)16
SP 400 (хлорфенил)	0/350	032	072	070	100	068	
SP 2100 (метил)	0/350	017	057	045	067	043	
SP 2250 (50% фенила)	0/375	119	158	162	243	202	(3)15, 16
SP 2300 (36% цианпропила)	25/275+	316	495	446	637	530	См. Силар SCP
SP 2310 (55% цианпропила)	25/275+	440	637	605	840	670	
SP 2330 (68% цианпропила)	25/275+	490	725	630	913	778	
SP 2340 (75% цианпропила)	25/275+	520	757	659	942	800	См. Силар 10C
SP 2401 (трифторпропила)	0/275+	146	238	358	468	310	

Сипонат DS 10	0/200	099	569	320	344	388	
SP 216 PS	25/200	632	875	733	1000	680	
SP 525	60/275	225	255	253	368	320	
SP 1000	50/275	332	555	393	583	546	
SP 1200	25/200	067	170	103	203	166	
Спан 80	15/150	097	266	170	216	268	
Сквалан	20/100	000	000	000	000	000	(3)5
Сквален	0/100	152	341	238	329	344	(3)3
STAP	100/225	345	586	400	610	627	
Сахарозы ацетонизобутират (SAIB)	0/200	172	330	251	378	295	
Тетразтиленпентамин	0/125						
1,2,3,4-Тетракис-(2-цианозтокси)бутан	110/200	617	860	773	1048	941	
THEED (тетраоксэтилендиамин)	0/150	463	542	626		893	
Трикрезилфосфат	20/125	176	321	250	374	299	
Тримерная кислота	0/150	094	271	163	182	378	
1,2,3-Трис-(2-цианозтокси)пропан	0/175	594	857	759	1031	917	
Тритон X-100	0/200	203	399	268	402	362	
Тритон X-305	0/200	262	467	314	388	430	(2)29
Твин 80	0/150	227	430	283	438	396	
Тергитол NPX	10/175	197	386	258	389	351	
Тетрацианозтилированный пентаэри- триг	30/175	526	782	677	920	837	
UCON LB-550-X	0/200	118	271	158	243	206	(3)3, (2)2
UCON 50-HB-280-X	0/200	177	362	227	351	302	

Продолжение таблицы

Неподвижная жидкая фаза	Температура, °C min/max	Константы Мак-Рейнольдса					Замечания
		x'	y'	z'	u'	s'	
UCON 50-HB-2000	0/200	202	394	253	392	341	
UCON 50-HB-5100	0/200	214	418	278	421	375	(3)16, 17, 29
FFAP	50/250	340	580	397	602	625	См. SP 1000; (3)22,7
Фторолуб GR 362	0/75						
Халкомид M-18	40/150	079	268	130	222	146	
Халкомид M-18-OL	8/150	089	280	143	239	165	
Цинка стеарат	0/150	061	231	059	098	544	
Эмульфор ON-870	0/200	202	395	251	395	344	(2)29
Эпон 1001	50/225	284	489	406	539	601	
Этофат 60/25	50/125	191	382	244	380	333	
Этиленгликольадипат	100/225	372	576	453	655	617	
Этиленгликольфталат	100/200	453	697	602	816	872	
Этиленгликольсебацинат	100/200						
Этиленгликольсукцинат	100/200	537	787	643	903	889	
Этиленгликольтетрафторфталат	120/200	307	345	318	428	466	
UCW 982	0/250	016	055	045	066	042	См. SP 2100

Приложение III

ДАННЫЕ ПО ПОРИСТЫМ ПОЛИМЕРАМ

Иногда эти материалы оказываются весьма ценными для тех или иных газохроматографических разделений, однако наиболее широко их применяют для концентрирования анализируемых проб (разд. 11.10).

МАТЕРИАЛЫ ТИПА ПОРАПАК

Порапаки характеризуются малыми временами удерживания воды, спиртов и гликолей; они наиболее универсальны из всех пористых полимеров. По возрастанию степени сродства к воде им приписывают полярность (N, P, Q, R, S, T). Порапак P — тройной сополимер стирола, этилвинилбензола и дивинилбензола; порапак Q — сополимер этилвинилбензола и дивинилбензола; порапак R — N-винилпирролидин; порапак T — этиленгликоль — диметакрилат. В продажу поступают все эти материалы зернением 50—80, 80—100, 100—120, 150—200 и 200—325 меш. По данным фирмы-поставщика верхний предел температуры для них равен 250°C, за исключением порапаков типа N и T, для которых этот предел равен 190°C, но даже и при меньших температурах можно наблюдать их деградацию в присутствии кислорода. Полную информацию об этих материалах можно получить из Product Brochure PB-71-205 и Data Sheet DS-71-004, которые можно приобрести у фирмы Waters Associates, Inc., 61 Fountain Street, Framingham, Massachusetts 01701, USA.

Приведенные ниже данные, представленные фирмой-поставщиком, позволяют оценить эффективность улавливания летучих соединений разных типов на этих материалах. В приведенных далее таблицах указаны времена элюирования (в минутах) разных

веществ на различных порапаках в колонке длиной около 2 м и с использованием гелия в качестве газ-носителя.

ТЕНАКС GC

Пористый полимер на основе оксида 2,6-дифенил-*n*-фенилена, поставляемый фирмой Енка N. V., Голландия. Продажей этого материала в США занимается фирма Applied Science Laboratories, Inc., P. O. Box 440, State College Pennsylvania 16801. Этот материал обладает меньшей емкостью по сравнению с другими пористыми полимерами, однако благодаря высокой термической стабильности он представляет собой большую ценность (см. разд. 11.10, 13.2, 13.10). В продажу он поступает с зернением 60—80 и 35—60 меш. Фирма, производящая этот полимер, предупреждает, что при его использовании в хроматографических целях необходимо перед качественным или количественным анализом провести несколько циклов разделения анализируемой смеси. Подробные данные об этом полимере имеются в Technical Bulletin, № 24, который можно получить у фирмы Applied Science Laboratories. Приводимые ниже данные взяты из этого бюллетеня.

Время удерживания летучих соединений (в мин)
на порапаках при различных температурах

Температура колонки 32°C

	Тип порапака				
	P	Q	R	S	T
Воздух	0,39	0,30	0,35	0,33	0,44
Метан	0,49	0,47	0,61	0,8	0,66
Диоксид углерода	0,83	1,1	1,72	1,7	3,6
Этилен	1,27	2,3	3,2	4,0	3,8
Ацетилен	1,46	2,3	4,8	5,0	11,0
Этан	1,76	3,3	4,35	5,6	4,5
Вода	4,88	5,9	50,0	33,2	110
Пропилен	5,0	16	18,7	26	27
Пропан	7,9	21	22,8	29	24
Метилхлорид	8,6	19	—	34	50

Продолжение

	Тип порапака				
	P	Q	R	S	T
Воздух ^a	0,31	0,29	0,23	0,40	0,42
Метан	0,39	0,59	0,33	0,52	0,45
Диоксид углерода	—	—	0,56	0,78	0,85
Этилен	0,54	0,88	0,75	1,1	0,95
Ацетилен	—	0,88	0,95	1,2	1,4
Этан	0,54	0,88	0,95	1,3	1,0
Вода	1,00	1,2	3,5	3,2	7,1
Пропилен	—	—	2,3	3,6	2,6
Пропан	1,00	2,9	2,6	3,6	2,6
Метилхлорид	1,2	3,2	2,8	4,5	4,2
Винилхлорид	1,6	5,6	4,7	7,1	6,8
Метиловый спирт	1,4	2,9	5,6	7,8	10,0
Этиленоксид	—	—	4,2	7,8	9,5
Этилхлорид	2,7	9,7	8,5	13,5	13
Ацетон	5,3	17	15	36	41
Этиловый спирт	2,8	8,2	14	19,5	26
Пентан	6,7	—	20	36	22
Циклопентан	10,0	—	25	49	28
Бутадиен	2,4	7,9	7,5	11	9,1
Изопропиловый спирт	5,2	18	27	40	54
Ацетонитрил	4,9	12	13	20	41
Акрилонитрил	7,0	21	21	32	58
Диэтиловый эфир	6,6	30	22	35	28
Метиленхлорид	5,5	19	19	29	34
<i>n</i> -Пропиловый спирт	7,7	29	47	65	85
трет-Бутиловый спирт	7,7	39	55	74	98

Температура колонки 157°C

	Тип порапака				
	P	Q	R	S	T
Воздух	0,28	0,3	0,3	0,39	0,32
Метан	—	0,35	0,39	0,46	0,40
Диоксид углерода	—	—	0,39	0,62	0,50
Этилен	—	0,5	0,52	0,70	0,53
Ацетилен	—	—	0,58	0,62	0,64
Этан	—	0,55	0,58	0,70	0,53
Вода	0,48	0,65	1,0	1,4	1,7

^a По-видимому ниже приведены данные для температуры, отличной от 32°.

Продолжение

	P	Q	R	S	T
Пропилен	—	—	0,91	1,4	0,91
Пропан	—	1,16	0,91	1,4	0,91
Метилхлорид	—	1,21	1,1	1,6	1,3
Винилхлорид	—	1,7	1,6	2,2	1,6
Метиловый спирт	0,54	1,1	1,5	1,9	2,2
Этиленоксид	—	—	1,35	—	2,1
Этилхлорид	—	2,5	2,3	3,1	2,7
Ацетон	1,00	3,5	3,4	4,5	5,8
Этиловый спирт	0,75	2,2	2,8	3,4	4,1
Пентан	1,11	5,6	4,5	5,8	3,6
Циклопентан	1,3	7,1	5,5	7,5	4,5
Бутадиен	0,73	—	2,0	2,7	1,9
Изопропиловый спирт	0,94	3,8	4,5	5,7	6,7
Ацетонитрил	1,09	3,2	3,2	4,2	6,2
Акрилонитрил	1,22	4,1	4,4	5,7	7,7
Диэтиловый эфир	0,93	4,9	4,2	5,5	4,3
Метиленхлорид	1,2	4,2	3,7	5,3	5,0
n-Пропиловый спирт	1,2	5,0	6,5	7,8	9,5
трет-Бутиловый спирт	1,25	6,1	7,2	8,2	10,5
Гексан	2,1	13,5	8,5	13	8,1
Циклогексан	2,35	17	10,5	17	10,0
Бензол	2,65	14,5	10,0	16	13,0
Нитроэтан	2,55	9,7	8,5	13	22
Этиленгликоль	3,1	10,5	23	28	53
Пропиленгликоль	4,0	18,5	34	42	69
Муравьиная кислота	—	2,05	—	26	13,5
Уксусная кислота	—	4,3	14,5	26	21
Пропионовая кислота	—	10,5	32	—	46

МАТЕРИАЛЫ ТИПА ХРОМОСОРБ
«100-СЕРИЯ»

Эти материалы не следует путать с обычными диатомитовыми землями типа хромосорб. Пористые полимеры, о которых здесь идет речь,ставляет фирма Johns-Manville, Celite Division, 22 East 40th street, New York, N. Y. 10016; данные об этих материалах имеются в бюллетене Technical Bulletin FF-202A, который можно получить у фирмы-поставщика. В продажу эти материалы поступают зернением 50—60, 60—80, 80—100 и 100—120 меш.

Физические свойства	101	102	103	104	105
Стирол — ди-винилбензол	Стирол — ди-винилбензол	Стирол — ди-винилбензол	Поперечно-спитый полистирол	Акрилонитрил — дивинилбензол	Полиароматический
Плотность, г/см ³	0,30	0,29	0,32	0,32	0,34
Площадь поверхности, м ² /г	Менее 50	300—400	15—25	100—200	600—700
Средний диаметр пор, мкм	0,3—0,4	0,0085	0,3—0,4	0,06—0,08	0,04—0,06
Сродство к воде	Гидрофобный	Гидрофобный	Гидрофобный	Гидрофобный	Гидрофобный
Цвет	Белый	Белый	Белый	Белый ^a	Белый
Верхний предел температуры, °C (изотермический режим)	275	250	275	250	250
(программирование)	325	300	300	275	275

^a Приобретает желтую окраску после кондиционирования колонки и коричневую — после длительного использования, но это не влияет на работу колонки

Времена удерживания и индексы удерживания на хромосорбах «100-серия»
(стеклянная колонка размерами 3 мм × 1,3 м, 80—100 меш, 60 мл·мин⁻¹; газ-носитель — гелий)

Соединение	Т. кип., °С	Молекулярная масса	101		102		103		104		105	
			время удерживания, мин	индекс удерживания	время удерживания, мин	индекс удерживания	время удерживания, мин	индекс удерживания	время удерживания, мин	индекс удерживания	время удерживания, мин	индекс удерживания
Спирты												
н-С ₁	64,7	32,00	0,46	440	0,43	360	0,46	420	1,05	625	0,50	365
н-С ₂	78,4	46,10	0,57	495	0,65	425	0,57	495	1,38	690	7,79	435
н-С ₃	97,2	60,10	0,83	595	1,11	510	0,87	595	2,28	795	1,51	535
н-С ₄	118,0	74,12	1,31	700	2,08	615	1,41	705	3,99	905	3,07	655
н-С ₅	119,9	88,15	2,13	805	3,91	725	2,36	810	5,88	980	6,30	760
изо-С ₃	82,4	60,10	0,71	555	0,94	485	0,67	540	1,57	720	1,17	490
изо-С ₄	108,1	74,12	1,12	665	1,84	595	1,19	660	3,19	865	2,61	625
изо-С ₅	130,0	88,15	1,87	775	3,55	700	2,07	780	5,96	985	5,51	755
втор-С ₄	99,5	74,12	0,98	635	1,60	570	1,09	655	2,57	820	2,26	615
трет-С ₄	82,6	74,12	0,74	565	1,20	525	0,77	575	1,96	765	1,64	545
трет-С ⁵	102,4	88,15	1,24	690	2,38	635	1,34	695	3,43	780	3,44	665
Кетоны												
Ацетон	56,5	50,10	0,70	555	0,91	480	0,43	530	1,85	755	1,06	465
МЭК	79,6	72,10	1,03	645	1,61	570	0,67	640	2,92	850	2,03	580
ДиЭК	102,0	86,10	1,60	745	2,88	665	1,04	735	4,54	935	3,06	675
Эфиры												
Дипропиловый	90,1	102,18	1,27	645	0,81	510	0,84	690	—	—	—	—
Дибутиловый	142,4	130,23	3,26	885	5,21	880	2,23	885	—	—	—	—
Хлоралкилы												
CH ₂ Cl	40,2	84,93	0,77	590	1,10	510	0,51	575	1,54	715	—	—
CHCl ₃	61,2	119,40	1,07	675	1,82	590	0,74	660	—	—	—	—
CCl ₄	76,8	153,82	1,27	720	2,58	650	0,92	710	1,66	730	2,91	635
1,2-Cl ₂ Et	83,5	98,96	1,32	725	2,15	620	0,91	705	—	—	—	—
1,2-Cl ₂ Pr	96,4	113,00	1,62	775	3,20	685	1,13	755	—	—	—	—
Гликоли												
1,2-С ₂	196,0	62,10	1,91	780	1,40	625	—	—	—	—	—	—
1,3-С ₃	97/6 мм	76,10	3,67	910	2,61	745	—	—	—	—	—	—
1,4-С ₄	228,0	90,12	6,63	1030	4,78	895	—	—	—	—	—	—
1,3-С ₄	116/20 мм	90,12	4,47	950	3,55	810	—	—	—	—	—	—
2,3-С ₄	—	90,12	2,83	865	2,54	740	—	—	—	—	—	—
Бутен	—	—	7,30	1050	4,88	865	—	—	—	—	—	—
Бутин	—	—	9,01	1090	5,41	885	—	—	—	—	—	—
Альдегиды												
С ₂	20,20	44,05	0,48	440	0,53	400	0,45	410	1,00	615	0,59	395
н-С ₃	49,50	58,08	0,69	550	0,90	475	0,66	535	1,60	725	1,05	480
н-С ₄	75,70	72,11	1,02	645	1,57	565	0,99	630	2,65	830	2,02	580
Кислоты												
С ₂	118,1	60,50	0,88	610	0,70	435	—	—	6,02	985	1,74	555

Соединение	Т. кип., °С	Молекулярная масса	101	102	103	104	105						
			время удер- жива- ния, мин	индекс удер- жива- ния	время удер- жива- ния, мин	индекс удер- жива- ния	время удер- жива- ния, мин	индекс удер- жива- ния					
С ₃	141,1	74,10	1,37	715	1,07	495	—	—	—	9,32	1070	3,46	655
С ₄	164,0	88,10	2,15	805	2,00	610	—	—	—	15,02	1155	6,91	765
С ₅	186,4	102,13	3,60	910	3,60	705	—	—	—	25,92	1255	14,40	875
Ацетаты													
Метил	57,3	74,08	0,75	570	1,08	505	0,48	560	1,51	710	1,20	500	
Этил	77,1	88,10	1,01	655	1,70	580	0,64	630	2,14	785	2,09	585	
Пропил	101,6	102,13	1,55	735	3,10	680	1,00	730	3,85	885	4,09	685	
Бутил	126,1	116,16	2,53	540	5,77	780	1,66	825	6,06	990	8,24	790	
Нитрилы													
Ацето	81,6	41,05	0,77	580	0,87	460	0,75	565	3,05	855	1,01	480	
Пролио	97,2	55,08	1,07	660	1,39	550	1,04	640	4,37	925	1,73	560	
Амины													
и-С ₁	—6,7/755 мм	31,06	—	—	—	—	0,43	390	—	—	—	—	—
и-С ₂	16,6	45,08	—	—	—	—	0,53	470	—	—	—	—	—
и-С ₃	49,0	59,11	—	—	—	—	0,77	575	—	—	—	—	—

n-C ₄	77,8	73,14	—	—	—	—	1,21	670	—	—	—
n-C ₅	103,0	87,17	—	—	—	—	1,98	770	—	—	—
n-C ₆	129,0	101,19	—	—	—	—	3,34	865	—	—	—
изо-C ₃	32,0	59,11	—	—	—	—	0,63	525	—	—	—
изо-C ₄	66,0	73,14	—	—	—	—	1,05	645	—	—	—
изо-C ₅	95,00	87,17	—	—	—	—	1,76	745	—	—	—
трет-C ₄	45,00	73,14	—	—	—	—	0,73	560	—	—	—
трет-C ₅	76,00	87,17	—	—	—	—	1,26	680	—	—	—
Диметил	6,9	45,09	—	—	—	—	0,45	410	—	—	—
Диэтил	56	73,14	—	—	—	—	0,83	590	—	—	—
Триэтил	89	101,19	—	—	—	—	1,45	710	—	—	—
Дипропил	109	101,19	—	—	—	—	2,00	770	—	—	—
Динпропил	83	101,19	—	—	—	—	1,26	680	—	—	—
Диамины											
1,2-C ₂	117,2	60,10	—	—	—	—	1,69	740	—	—	—
1,3-C ₃	138,0	74,13	—	—	—	—	2,90	840	—	—	—
1,4-C ₄	54/11 мм	88,15	—	—	—	—	5,06	940	—	—	—
1,5-C ₅	—	102,18	—	—	—	—	8,82	1040	—	—	—
1,2-C ₃	—	74,13	—	—	—	—	2,11	785	—	—	—
Анилины											
Анилин	184,4	91,13	—	—	—	—	2,97	1140	—	—	—
n-Метил	81/14 мм	107,16	—	—	—	—	3,92	1210	—	—	—
n-Этил	97/21 мм	121,18	—	—	—	—	4,61	1245	—	—	—
n-Пропил	85/5 мм	135,2	—	—	—	—	6,47	1335	—	—	—
n-n-Диметил	194,2	121,18	—	—	—	—	4,06	1220	—	—	—

Соединение	Т. кип., °C	Молекулярная масса	101			102			103			104			105		
			время удерживания, мин	индекс удерживания	время удерживания, мин	индекс удерживания	время удерживания, мин	индекс удерживания	время удерживания, мин	индекс удерживания	время удерживания, мин	индекс удерживания	время удерживания, мин	индекс удерживания	время удерживания, мин	индекс удерживания	время удерживания, мин
Арилы																	
Бензол	80,1	78,10	1,60	745	2,61	650	1,55	720	2,72	835	2,93	835	2,93	835	2,93	835	2,93
Метилбензол	110,6	92,14	2,59	845	4,81	750	2,57	820	4,56	935	—	935	—	935	—	—	—
Этилбензол	136,2	106,17	4,10	935	8,63	845	4,24	910	7,05	1020	—	1020	—	1020	—	—	—
Другие соединения																	
Циклогексан	80,7	84,16	1,37	700	2,62	560	1,38	695	1,50	710	3,02	710	3,02	710	3,02	710	3,02
Циклогексен	83,3	82,15	1,51	730	2,71	655	1,51	715	1,75	735	—	735	—	735	—	—	—
Диоксан	—	—	1,84	775	3,00	675	1,23	770	4,55	935	—	935	—	935	—	—	—
Нитрометан	65	61,04	1,05	650	1,12	510	—	—	4,62	935	1,49	935	1,49	935	1,49	530	530
Фенол	182	94,11	8,13	1070	6,01	905	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Пиридин	115,5	79,10	2,28	850	3,68	705	1,60	820	7,38	1025	5,09	1025	5,09	1025	5,09	720	720

Некоторые соединения, разделенные на тенаксе GC^a

	Температура элюирования, °C	Время удерживания, мин
Оксиэтилированный лауриловый спирт		
Технический лауриловый спирт		
+5 звеньев этиленоксида	200—380	50
Спирты		
1-Деканол	260	1,5
1-Додеканол	265	2,5
1-Гексадеканол	290	7
1-Октадеканол	310	10
Полиэтиленгликоль		
4 звена этиленоксида	260	7,5
8 звеньев этиленоксида	350	18,5
Диолы		
Этиленгликоль	155	0,5
1,3-Пропандиол	160	2
1,4-Бутандиол	175	4,5
1,5-Пентандиол	190	7
1,6-Гександиол	205	9,5
1,7-Гептандиол	225	12
1,8-Октандиол	240	15
1,9-Нонандиол	255	17,5
1,10-Декандиол	270	20
Фенолы		
Фенол	210	2,5
m-Крезол	220	4
2,6-Диметилфенол	225	5
3,5-Диметилфенол	230	6
o-Аминофенол	245	9
m-Аминофенол	260	11,5
m-N,N-Диэтиламинофенол	280	15,5
Нафтол	285	17
p-Фенилфенол	320	23,5
Метилловые эфиры дикарбоновых кислот		
Гександионовая кислота	240	5
Гептандионовая кислота	250	6,5

Продолжение таблицы

	Температура элюирования, °C	Время удерживания, мин
Октандионовая кислота	265	8
Нонандионовая кислота	275	9,5
Декандионовая кислота	290	11,5
Додекандионовая кислота	315	14,5
Этаноламины		
Этаноламин	155	0,5
Диэтанолламин	210	7,5
Триэтанолламин	270	15
Алкиламины		
Пропиламин	130	5
1-Метилпропиламин	140	7
Бутиламин	155	9
3-Метилбутиламин	170	11,5
Гексиламин	195	16
Диамины		
1,5-Пентадиамин	190	2,5
1,6-Гексадиамин	195	4
1,7-Гептадиамин	210	7
1,8-Октадиамин	220	10
1,9-Нонадиамин	230	13
1,10-Декадиамин	245	16
1,12-Додекадиамин	265	21,5
Амиды		
Формаид	130	3
Ацетаид	140	6
N,N-Диметилформаид	140	7
N-Метилацетаид	145	9
Пропаиоамид	150	10,5
N,N-Диметилацетаид	155	11,5
Ароматические амины		
Пиридин	160	1,5
Морфолин	165	2,5
Анилин	190	6,5
o-Толуидин	205	9

Продолжение таблицы

	Температура элюирования, °C	Время удерживания, мин
Карбонильные соединения		
Ацетон	120	2,5
Гликольальдегид	130	4
2,4-Пентандион	170	9
Циклогексанон	190	11,5
Бензальдегид	210	13,5
5-Нонанон	200	9,5
6-Ундеканон	225	15
3-Додеканон	240	18,5
4-Тридеканон	255	21
5-Тетрадеканон	270	23,5
6-Пентадеканон	280	26
6-Гексадеканон	290	28,5

^a Температура элюирования и время удерживания приведены для режима программирования температуры.

Приложение IV

РЕАКЦИИ СИЛАНИЗАЦИИ
И ОБРАЗОВАНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ

Термин *силилирование* обычно означает триметилсилилирование, т. е. замещение активного атома водорода группой $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$. Иногда этим термином обозначают замещение или присоединение таких кремнийорганических групп, как диметилсилил $-\text{Si}(\text{CH}_3)_2$ или хлорметилдиметилсилил $\text{Si}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{Cl}$. Реагенты, специальные наборы для силанизации, а также превосходное руководство «Справочник по силанизации» [1] можно получить у фирмы Pierce Chemical Company, P. O. Box 117, Rockford, Illinois, 61105, USA. Эта же фирма распространяет подробное руководство [2] по методикам и реакциям силилирования.

Под действием воды триметилсилильные (ТМС) реагенты и их производные обычно разлагаются; поэтому шприцы, реакционные сосуды, реагенты и обрабатываемые материалы должны быть сухими. Продукт гидролиза—гексаметилдисилоксан $(\text{CH}_3)_3\text{SiOSi}(\text{CH}_3)_3$; по высоте хроматографического пика этого соединения можно судить о содержании влаги в обрабатываемом материале и в реагентах. Продолжительность реакции силанизации может изменяться от нескольких секунд до нескольких часов. Для определения минимально необходимой продолжительности реакции в хроматограф следует вводить пробы реакционной смеси через 5, 15, 30 мин, 1, 4 и 8 ч после ее приготовления. В качестве необходимой продолжительности реакции силилирования можно принять наиболее короткий из этих интервалов, по истечении которого по меньшей мере в двух последующих разделах не наблюдалось увеличения высоты

хроматографического пика продукта (или продуктов) реакции [1].

При испарении производных на металлической поверхности может произойти их разложение; рекомендуется использовать целиком стеклянные устройства для ввода проб. Наличие следовых примесей влаги в газе-носителе может привести к разложению производных; необычную устойчивость к действию влаги проявляют производные сахаров, а производные аминокислот необычно неустойчивы к действию даже следовых количеств влаги. Некоторые исследователи рекомендуют устанавливать поглотители кислорода и влаги на линии газа-носителя.

Растворы также должны быть безводными; наиболее широко применяют для этой цели пиридин; некоторые исследователи считают его преимуществом акцепторную способность по отношению к HCl [1, 2]. Широко применяют и диметилформамид; в некоторых специальных случаях полезны диметилсульфоксид и тетрагидрофуран. Иногда применяют и ацетонитрил, несмотря на его токсичность в жидкой и паровой фазах.

Так как реагент силилирования обычно берут в избытке, то вводимая в хроматограф проба содержит заметное количество непрореагировавшего реагента. Вследствие этого приходится отказываться от использования неподвижных жидких фаз, содержащих активные атомы водорода; наиболее широко применяют силиконовые неподвижные жидкие фазы, хотя хорошо проявили себя и жидкие фазы типа апиезон.

РЕАГЕНТЫ

Ниже перечислены несколько наиболее распространенных реагентов силанизации. Эти реагенты, а также много других можно приобрести, например, у фирмы Pierce Chemical Company.

BSA: N,O-бис-(триметилсилил)-ацетамид

BSTFA: N,O-бис-(триметилсилил)-трифтороацетамид

Преимущество второго реагента в том, что побочные продукты его реакции имеют низкие температуры

кипения. Его поставляют в чистом виде или с добавкой 1% ТМС (см. ниже) в качестве катализатора.

HMDS: гексаметилдисилазан

Дает несколько замедленную реакцию, но ее можно катализировать ТМС (см. ниже).

TMCS: триметилхлоросилан

Дает несколько замедленную реакцию, но является мощным катализатором в комбинации с другими реагентами.

НАБОРЫ ДЛЯ СИЛАНИЗАЦИИ

Продают наборы с ампулами одноразового применения и со склянками, закрытыми мембранами; в наборах имеются растворитель, реагент и готовый катализатор (на случай необходимости его применения). В типичном наборе имеются следующие соединения: TRI-SIL

Применяют для разнообразных соединений, содержащих гидроксид-, карбоксид- и аминоксигруппы.

TRI-SILZ

Реагирует в присутствии умеренных количеств воды, особенно полезен для получения производных сахаров.

TRI-SIL-BSA

Мощный и универсальный силильный донор; поставляют в виде растворов в пиридине (форма Р) и диметилформамиде (форма D).

ТИПИЧНЫЕ РЕАКЦИИ

Ниже перечислено несколько общих и классических реакций. Подробный обзор специфических реакций образования производных имеется в работе [3].

Общие

Пробу 5—10 мг и 1 см³ реагента TRI-SIL встряхивают в пластмассовой закрытой ампуле в течение примерно 30 с. Если растворение идет с трудом, то смесь

нагревают до 75—85°C. Затем выжидают в течение 5 мин и вводят содержимое ампулы в хроматограф [4].

Сахара и т. п. (см. [5])

Раствор не более 10 мг карбогидрата в 1 см³ безводного пиридина обрабатывают 0,2 см³ HMDS и 0,1 см³ TMCS. Смесь встряхивают (примерно 30 с) до полного растворения реагентов; как и в предыдущем случае, может потребоваться нагревание. Спустя 5 мин начинают вводить в хроматограф серию проб для определения продолжительности реакции.

Сиропа и т. п.

К 60—70 мг густого сахарного сиропа добавляют 1 см³ пиридина, 0,9 см³ HMDS и 0,1 см³ трифторуксусной кислоты. Встряхивают смесь в течение 30 с, оставляют ее на 15 мин и начинают ввод серии проб. Сахара и т. п.: 5—20 мг образца добавляют к 1 см³ пиридина, содержащего 12 мг солянокислого метоксиламина, и в течение 2 ч выдерживают смесь при температуре 80°C; затем к ней добавляют 0,3 см³ BSTFA, содержащего 4% TMCS, смесь выдерживают при температуре 80°C в течение 15 мин и вводят в хроматограф [6].

Стероиды (см. [7, 8])

0,1—5 мг образца добавляют к 0,2—0,4 см³ BSA; при необходимости полного растворения образца в смесь добавляют 0,1—0,2 см³ пиридина и нагревают до 60°C. Продолжительность реакции изменяется от нескольких минут до нескольких часов; область применения этой реакции ограничивается главным образом замещением пространственно-незатрудненных групп [6]. Для замещения пространственно-среднезатрудненных групп (например, N-β-олы) совместно с незатрудненными группами вместо BSA рекомендуется TRI-SIL-BT. Реакция полного замещения среднезатрудненных групп идет в течение 6—24 ч при комнатной температуре или 3—6 ч при темпера-

туре 60°C [6]. Для замещения наиболее затрудненных групп вместо BSA следует применить реагент TRI-SIL-TBT'. Продолжительность соответствующей реакции обычно равна 6—24 ч при температуре 60—80°C [7]. Кетостероиды анализировали в форме о-пентафторбензилоксимовых производных [9] методом, который позже стали применять для анализа дегидроэпиандростерона в плазме человеческой крови [10].

Аминокислоты

Для приготовления летучих производных аминокислот, пригодных для газохроматографического анализа, применяли разнообразные методики. Хорнинг и сотр. [11] разработали методику, которая позволяет осуществлять силанизацию гидроксильных групп с одновременным ацилированием аминогрупп. Опирается эта методика на тот факт, что *N*-триметилсилилимидазол (TSIM) силанизует только гидроксильные группы, блокируя их от последующей реакции, а аминогруппы остаются свободными, и их можно ацилировать с образованием *O*-триметилсилил, *N*-фтороацильных производных.

К раствору 1 мг образца в 0,1 см³ ацетонитрила добавляют 0,2 см³ реагента TSIM и выдерживают закрытый реакционный сосуд в течение 3 ч при температуре 60°C. В зависимости от того, какое производное желательно получить, в сосуд добавляют 0,1 см³ либо *N*-гептафторбутирилимидазола (HFBI), либо *N*-трифторацетилимидазола (TFAI) и выдерживают смесь в течение 30 мин при температуре 60°C. После этого порции реакционной смеси непосредственно вводят в хроматограф. Вместо *N*-ацилированных эфиров в качестве летучих производных для газохроматографического анализа предлагалось использовать внутренние эфиры ацилированных аминокислот, азлактоны или оксазолиноны-5 [12]. Смеси α -метиламинокислоты также анализировали в форме их производных 2-фенилоксазолинона-5, полученных путем *N*-бензолилирования аминогруппы с по-

следующим образованием внутреннего эфира под действием дициклогексилкарбодиимина [13].

Позднее Тенот и Хорнинг [14] сообщили о том, что можно одновременно замещать карбоксильную и аминоксигруппы под действием только *N,N*-диметилформамиддиметилацетала. Первая из этих групп образует метиловый эфир, вторая — *N*-диметиламинометиленовое производное; сообщается, что получаемый при этом летучий продукт обладает высокими газохроматографическими и масс-спектральными характеристиками.

Пробу смешивают с реагентом, выдерживают при температуре 60°C в течение 10 мин и вводят в хроматограф порции теплой реакционной смеси. Как обнаружил Скоггинс [15], эта методика применима и для образования производных диастереоизомеров диаминов.

Несколько других методик образования производных аминокислот описано в разд. 13.3.

Пестициды

Основное в анализе пестицидов — проблема очистки. В нескольких номерах журнала *Journal of Chromatographic Science* были опубликованы обзоры, посвященные анализу пестицидов (13, май — июль, 1975).

Жирные кислоты

Имеется большая информация по методикам получения производных жирных кислот. Анализу жирных кислот было посвящено несколько номеров журнала *Journal of Chromatographic Science* (13, сентябрь — октябрь, 1975). Ниже кратко описано большинство применяемых в настоящее время методик (см. также разд. 13.5).

Наиболее широко применяют методику с использованием реагента трифторида бора (BTF), поскольку он устойчив, а реакция отличается простотой и большой скоростью [16]. Очень популярен и реагент BTF-бутанол [17]. При использовании любого из этих реа-

гентов около 25 мг обрабатываемой жирной кислоты, обычно растворенной в 2 см³ бензола, смешивают с 2 см³ реагента и кипятят смесь на водяной бане в течение 3 мин. Затем к смеси добавляют около 1 см³ воды и выжидают ее расслоения (при необходимости смесь центрифугируют). Верхний слой бензола, содержащий эфиры жирных кислот, используют для анализа. Для приготовления метиловых эфиров жирных кислот применяли также метанольный раствор HCl, который получали путем пробульквания сухого газообразного HCl через безводный метанол; сообщалось, что такая методика особенно эффективна для обработки более летучих или короткоцепочечных жирных кислот.

Для приготовления метиловых, этиловых, *n*-пропиловых, *n*-бутиловых и *трет*-бутиловых эфиров длинноцепочечных жирных кислот Тенот и сотр. [18] применяли диметилформамиддиалкилацетали. Легкорастворимые пробы выдерживали с реагентом при температуре 60°C в течение 10 мин и затем вводили в хроматограф; для менее растворимых проб применяли смесь 1:1 реагента и пиридина и вели обработку тем же способом.

Раствором HCl в безводном метаноле проводили *транс*-этерификацию жирных кислот, жиров и масел [19], причем в одном случае для ускорения реакции и для того, чтобы обойтись без нагревания, к реакционной смеси добавляли 2,2-диметоксипропан [20]. В работе [21] был описан и способ количественного получения метиловых эфиров глицеридов, холестериловых эфиров и фосфолипидов при помощи реакции, катализируемой метоксидами натрия и калия.

Литература

1. Handbook of Silylation. Pierce Chemical Company, Rockford, Illinois.
2. Pierce A. E., «Silylation of Organic Compounds», Pierce Chem. Company, Rockford, Illinois, 1968.
3. Cram S. P., Juvel R. S., Anal. Chem., 48, 411R (1976)
4. Sweeley C. C., Bentley R., Makita M., Wells W. W., J. Am. Chem. Soc., 85, 2497 (1963).

5. Laine R. A., Sweeley C. C., Carbohydr. Res., 27, 199 (1973).
6. Chambaz E. M., Horning E. C., Anal. Lett., 1, 201 (1968).
7. German A., Horning E. C., J. Chromatogr. Sci., 11, 76 (1973).
8. Sandra P., Verzele M., van Luchene E., Chromatographia, 8, 499 (1975).
9. Koshy K. T., Kaiser D. C., van der Slik A. L., J. Chromatogr. Sci., 13, 97 (1975).
10. Nambara T., Kigasawa K., Iwata T., Ibuki M., J. Chromatogr., 114, 81 (1975).
11. Horning M. G., Moss A. M., Boucher E. A., Horning E. C., Anal. Lett., 1, 311 (1968).
12. Grahl-Nielsen O., Solheim E., Chem. Commun., 1972, 1093.
13. Grahl-Nielsen O., Solheim E., Anal. Chem., 47, 333 (1975).
14. Thenot J. P., Horning E. C., Anal. Lett., 5, 519 (1972).
15. Scoggins M. W., J. Chromatogr. Sci., 13, 146 (1975).
16. Metcalfe L. D., Schnitz A. A., Anal. Chem., 33, 363 (1961).
17. Jones E. P., Davison V. L., J. Am. Oil Chem. Soc., 62, 121 (1965).
18. Thenot J. P., Horning M. G., Stafford M., Horning E. C., Anal. Lett., 5, 217 (1972).
19. Stoffel W., Chu F., Ahrens E. H., Anal. Chem., 31, 307 (1959).
20. Mason M. E., Waller G. R., Anal. Chem., 36, 583 (1964).
21. Luddy E. F., Barford R. A., Riemenschneider R. W., J. Am. Oil Chem. Soc., 45, 549 (1968).

Дополнение*

КАПИЛЛЯРНЫЕ КОЛОНКИ С НАСАДКОЙ В ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Капиллярные колонки с насадкой все шире используют в хроматографической практике для проведения аналитических и физико-химических измерений (см., например, обзор [1]). Под насадочными капиллярными колонками (НKK) следует понимать заполненные сорбентом колонки с внутренним диаметром менее или равным 2 мм. Это определение является условным и несколько субъективным, что объясняется отсутствием четкой границы между капиллярными насадочными колонками и насадочными колонками. Однако именно у колонок диаметром 1—2 мм начинают проявляться характерные свойства, присущие капиллярным колонкам.

Впервые НKK были получены Халаши [2] путем вытягивания на машине Дести [3] трубки, предварительно заполненной либо активным адсорбентом [2, 4], либо инертным носителем [5], с последующим нанесением на него стационарной фазы фронтальным методом. В колонках, полученных таким способом, распределение сорбента по длине колонки неравномерно; имеются участки с частично вдавленным сорбентом в стенки капилляра. Этим способом можно получить колонки большой длины и сравнительно высокой эффективности, но для этого необходим носитель с достаточной механической прочностью и термостабильностью; носитель в большинстве случаев нельзя обработать стационарной фазой заранее. Предпочтительными оказались капиллярные колонки с плотной регулярной упаковкой сорбента, которые впервые получены Картером [6] путем заполнения стальных трубок длиной

200 см с внутренним диаметром 0,25 и 0,5 мм зернами микросферического стекла (зернением 40 мкм) и нанесения на него фронтальным методом неподвижной жидкой фазы (НЖФ). ВЭТТ для колонок, полученных таким способом (Н), составляли 2 и 0,7 мм. Более эффективные колонки ($H = 0,36\text{--}0,39$ мм) получены позднее в работе [7], где металлические трубки диаметром 0,5 и 1 мм длиной 100 см заполняли хромосорбом или кизельгуром при помощи вибратора и затем фронтальным методом наносили НЖФ на твердый носитель в колонке.

С 1963 г. в практике газовой хроматографии применяют капиллярные колонки, заполненные предварительно приготовленным сорбентом [8, 9]. Систематическое изучение характеристик колонок этого типа проведено в работах [10—12], в которых исследованы общие аналитические свойства этих колонок в более широком аспекте (в частности, впервые изучено изменение эффективности колонок этого типа в зависимости от основных параметров эксперимента), а также показана перспективность их использования для измерения физико-химических характеристик (теплота адсорбции, энергия активации химических реакций и т. д.). В хроматографической практике применяют короткие и длинные капиллярные колонки.

Процесс разработки заполненных сорбентом капиллярных колонок можно разделить на два этапа: 1) разработка методов изготовления и применения колонок небольшой длины; 2) разработка методов изготовления и применения длинных колонок. Короткие колонки (в основном 1—2 м) характеризуются высокой удельной эффективностью (число теоретических тарелок (ТТ) на 1 м колонки составляет 2000), но общая эффективность их незначительна (обычно не более 2000—5000 ТТ). Короткие колонки целесообразно использовать для экспресс-анализа относительно несложных смесей. Развитие длинных капиллярных колонок с насадкой (длина более 10 м) началось лишь в 1971 г. [13]. Высокая эффективность этих колонок (описаны колонки с эффективностью до 60 000 ТТ, однако можно получить и более длинные колонки) оп-

* Составлено проф. В. Г. Березкиным.

ределяет их перспективность для исследования многокомпонентных и трудно разделяемых смесей и для анализа примесей.

В НКК благодаря малому диаметру и наличию сорбента выгодно сочетаются преимущества классических капиллярных и обычных насадочных колонок. Малый диаметр определяет существенные преимущества НКК по сравнению с обычными насадочными колонками. К ним относятся: 1) высокая эффективность; 2) экспрессность анализа; проведенные в работе [14] расчеты показали, что время, необходимое для получения одной и той же степени разделения в НКК, в два раза меньше, чем в обычных колонках; 3) более стабильный режим программирования температуры как следствие незначительной тепловой инерции колонок; 4) миниатюризация колонок, т. е. возможность создания малогабаритной аппаратуры с компактным термостатом, в котором легко осуществить быстрый нагрев и охлаждение колонки; 5) экономичность, т. е. более широкие возможности использования дефицитных и дорогостоящих сорбентов, так как количества используемых сорбентов невелики. В качестве недостатков НКК при сопоставлении с обычными насадочными колонками следует отметить: 1) несколько более сложная и продолжительная техника заполнения, 2) необходимость использования детекторов с «мертвым» объемом менее 30 мкл (в частности, микрокатарометра), так как обычный катарометр слишком инерционен.

Применение сорбента в НКК обуславливает ряд их преимуществ по сравнению с классическими капиллярными колонками.

1) Экспрессность при разделении легко- и среднесорбирующихся веществ [14]. Так, при коэффициенте распределения $K = 10$ продолжительность разделения в НКК меньше в ~ 30 раз, а при $K = 50$ — меньше в 2—3 раза;

2) Используя сорбенты различной полярности, колонки этого типа можно приготовить с хорошей воспроизводимостью как для хроматографии газ — жидкость, так и для хроматографии газ — твердое тело;

3) Достаточно высокая емкость позволяет вводить пробу без разделения потока, что уменьшает ошибки в количественных результатах и снижает требования к чувствительности детектора (возможна работа с микрокатарометром). Кроме того, большая емкость НКК приводит к повышению разделительной способности колонки при разделении слабосорбирующихся веществ и расширяет возможности капиллярной хроматографии в анализе примесей. Недостатком НКК по сравнению с классическими капиллярными колонками является довольно большое сопротивление потоку.

НКК характеризуется в общем большей эффективностью по сравнению с аналитическими колонками большего диаметра. Это, по-видимому, связано 1) с меньшей вероятностью образования «доменов» — плохо продуваемых газом-носителем уплотнений сорбента и 2) с уменьшением вклада эффекта отделанных каналов, впервые отмеченных Гиддингсом. НКК характеризуются не только повышенной эффективностью, но и меньшей зависимостью N от скорости газа-носителя. Это позволяет считать целесообразным их широкое использование в экспресс-анализе, который реализуется обычно при больших скоростях газа-носителя.

Заметное влияние на эффективность НКК оказывает также природа используемого газа-носителя. Применение аммиака в качестве газа-носителя по сравнению с широко используемыми азотом и гелием имеют следующие преимущества [15]: 1) вследствие меньшей вязкости уменьшается предел давления, что имеет важное значение для длинных НКК; 2) величина ВЭТТ при использовании аммиака меньше, чем при использовании гелия; 3) емкость баллонов с аммиаком больше, чем баллонов с азотом и гелием, что позволяет реже проводить смену баллонов и использовать небольшие баллоны для переносных хроматографов; 4) симметричность хроматографических зон в некоторых случаях повышается вследствие адсорбции аммиака на активных центрах твердого носителя [16].

Таким образом, анализ опубликованных данных свидетельствует о целесообразности применения НКК в хроматографической практике.

Капиллярные колонки небольшой длины (до 5 м) можно заполнять заранее приготовленным сорбентом вручную, используя либо простукивание по колонке, либо механический вибратор, перемещая его вдоль колонки. Эти способы позволяют получать колонки, воспроизводимые как по плотности заполнения, так и по характеристикам удерживания. Общим недостатком их является возможность заполнения сорбентом лишь прямых колонок и небольшой длины.

Разработанные недавно способы получения НКК большой длины, в том числе и стеклянных, расширяют возможности их применения в газохроматографическом анализе. Предложенный Крамерсом с сотр. [17] способ заключается в следующем. Спиральную трубку (стеклянную или металлическую), расположенную горизонтально, подсоединяют к цилиндрическому контейнеру. Насадку засыпают в контейнер и соединяют его с линией подачи давления. Нижнюю часть контейнера и почти всю спираль помещают в ультразвуковую ванну, причем второй конец колонки располагают выше уровня ванны. Вибрация и давление способствуют непрерывному переводу насадки в колонку. Поддержание перепада давления через наполненную часть колонки приблизительно постоянным обеспечивает однородную плотность набивки по всей колонке. Конечное давление зависит от материала используемой насадки, но оно должно быть $\sim 0,4\text{--}0,2$ атм на метр длины колонки (первая цифра относится к хромосорбу, последняя — к стеклянным шарикам). Время, необходимое для заполнения, составляет 1—2 мин на метр колонки. Большое значение имеет однородность частиц насадки, разброс величины которой должен составлять не более 20 мкм. Удаление пылевидных частиц достигается отсеиванием в вакууме. В зависимости от плотности носителя вместо отсеивания для получения однородной фракции можно применять флотацию или седиментацию. Описываемым выше способом были получены колонки длиной до 15 м с

внутренним диаметром 1,0—0,6 мм, эффективность которых составляла для стеклянных шариков 3500 и для хромосорба 3000 ТТ на 1 м (с хорошей воспроизводимостью).

Разработано более простое устройство [18], не требующее применения ультразвуковой ванны, в основу которого также положено действие двух факторов: вибрации колонки и давления инертного газа. Устройство позволяет заполнять сорбентом стеклянные колонки длиной до 30 м и более внутренним диаметром 0,6—1,2 мм с хорошей воспроизводимостью как по плотности заполнения, так и по эффективности. Эффективность колонок составляла 3000, в некоторых случаях до 4000 ТТ на 1 м, что не ниже эффективности колонок, полученных при помощи ультразвука.

Основные области применения НКК: 1) анализ сложных смесей (например, анализ смесей углеводородов [19, 20], спиртов [14], стероидов [17], барбитуратов [21], загрязнений воздуха [22] и т. д.); 2) анализ примесей (например, анализ примесей в изопрене [10] и во фторотане [23]); 3) экспресс-анализ (анализ углеводородов [24, 25]); 4) применение в промышленных автоматических хроматографах [26]; 5) измерение физико-химических характеристик (например, теплот адсорбции [24]).

Литература

1. Березкин В. Г., Школина Л. А., Липавский В. Н., Сердан А. А. Усп. химии, 1978, 47, с. 1875.
2. Halasz I., Heine E., Nature, 194, 971 (1962).
3. Desty D. H., Naresnape J. N., Whyman B. H., Analyt. Chem., 32, 302 (1960).
4. Schneider W., Bruderreck H., Halasz I., Analyt. Chem., 36, 1533 (1964).
5. Halasz I., Heine E., Analyt. Chem., 36, 1533 (1964).
6. Carter H. V., Nature, 197, 684 (1963).
7. Virus W., J. Chromatogr., 12, 406 (1963).
8. Вигдергауз М. С., Андреев Л. В. Нефтехимия, 1964, 4, с. 507.
9. Wigdergaus M. S., Andrejev L. V., J. Chromatogr., 18, 226 (1965).
10. Святошенко А. Т., Березкин В. Г. Нефтехимия, 1964, 4, с. 938.
11. Березкин В. Г. и др. Ж. анал. хим., 1966, 21, с. 1367.

12. Березкин В. Г. и др. ДАН СССР, 1968, 181, с. 867.
13. *Cramers C. A., Rijks J. A., Boček P.* Clinica Chimica Acta, 34, 159 (1971).
14. Школина Л. А. Канд. дисс., ИНХС АН СССР. — М.: 1975.
15. *Berezkin V. G., Shkolina L. A.*, J. Chromatogr., 119, 33 (1976).
16. *Ilkova E. L., Mistryukov E. A.*, J. Chromatogr., 54, 422 (1971).
17. *Cramers C. A., Rijks J., Boček P.*, J. Chromatogr., 65, 29 (1972).
18. Березкин В. Г., Школина Л. А., Липавский В. Н., Крашенинников С. К., Чернобровов А. В. Зав. лаб., 1974, 40, с. 650.
19. Школина Л. А., Кугучева Е. Е., Березкин В. Г., Артемова О. А. Зав. лаб., 1975, 41, с. 787.
20. Березкин В. Г., Школина Л. А. Журн. анал. хим., 1973, 28, с. 1838.
21. *Rijks J. A., Cramers C. A., Boček P.* Chromatographia, 8, 481 (1975).
22. *Bruner F., Cicciole P., Bertoni G., Liberti A.*, J. Chromatogr. Sci., 12, 758 (1974).
23. Пахомов В. П., Буданова Л. И., Березкин В. Г., Школина Л. А. Всесоюз. совещ. по анал. контролю производства лекарственных и фармацевтических препаратов. Тезисы докладов. — Пермь: 1974, с. 60.
24. Святошенко А. Т. и др. Изв. АН СССР, сер. хим., 1967, с. 1250.
25. *Cirendini S., Guillemin J., Vermont J., Gressin J. C.*, J. Chromatogr., 84, 21 (1973).
26. Липавский В. Н., Березкин В. Г. и др. Автоматизация и контрольно-измерительные приборы. Сб. статей. ЦНИИТЭнефтехим. — М.: 1973, № 9, с. 18.

Содержание

Предисловие редактора перевода	5
Предисловие	8

Глава 1

ВВЕДЕНИЕ

1.1. Общие замечания	9
1.2. Теория хроматографического процесса	10
1.3. Разделение компонентов смеси	24
Литература	29

Глава 2

СТЕКЛЯННЫЕ КАПИЛЛЯРНЫЕ КОЛОНКИ	30
2.1. Введение	30
2.2. Предварительная обработка поверхности колонки	34
Литература	42

Глава 3

НАНЕСЕНИЕ СЛОЯ НЕПОДВИЖНОЙ ЖИДКОЙ ФАЗЫ НА ВНУТРЕНнюю ПОВЕРХНОСТЬ КОЛОНКИ	44
3.1. Общие замечания	44
3.2. Динамические способы нанесения неподвижной жидкой фазы	44
3.3. Статические способы	48
3.4. Открытые колонки с пористыми стенками и колонки со стенками, покрытыми твердым носителем	52
3.5. Химически связанные фазы	55
3.6. Насадочные капиллярные и микронасадочные колонки	56
Литература	57

Глава 4

СИСТЕМЫ ДЛЯ ВВОДА ПРОБ В КОЛОНКУ	59
4.1. Общие замечания	59
4.2. Предварительное концентрирование пробы	60
4.3. Ввод пробы в колонку без деления потока газа-носителя	61
4.4. Делители потока газа-носителя	64
Литература	74

Глава 5	
УСТАНОВКА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ КОЛОНКИ В ХРОМАТОГРАФ	75
5.1. Общие замечания	75
5.2. Унифицированные блоки	81
5.3. Вспомогательный газ	84
5.4. Предварительная оценка качества хроматографической системы	86
Литература	89
Глава 6	
ИЗМЕРЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ КОЛОНКИ	90
6.1. Общие замечания	90
6.2. Число разделений	92
6.3. Другие понятия, используемые для описания характеристик колонки	94
Литература	98
Глава 7	
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЕЛИЧИН УДЕРЖИВАНИЯ	99
7.1. Общие замечания	99
7.2. Вычисление мертвого времени	100
7.3. Система индексов удерживания Ковача	100
7.4. Влияние температуры на индексы удерживания	101
7.5. Другие системы для описания характеристик удерживания	103
7.6. Данные удерживания как критерии идентификации	105
Литература	109
Глава 8	
ПРОГРАММИРОВАНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ КОЛОНКИ И ЗАМЕЧАНИЯ О ПОТОКЕ ГАЗА-НОСИТЕЛЯ	110
8.1. Общие замечания	110
8.2. Проблемы, характерные для капиллярных систем	111
8.3. Практически оптимальная скорость газового потока	114
8.4. Зависимость температуры элюирования и продолжительности анализа от скорости программирования температуры колонки и скорости потока-носителя	114
Литература	120

Глава 9	
СТАБИЛЬНОСТЬ КОЛОНКИ	121
9.1. Общие замечания	121
9.2. Влияние температуры колонки	123
9.3. Влияние величины анализируемой пробы и ее состава	125
9.4. Восстановление колонок	126
Литература	127
Глава 10	
ВЫБОР КОЛОНКИ	128
10.1. Общие замечания	128
10.2. Концепция полярности по Рорштейндеру	130
10.3. Другие методы выбора колонки	133
10.4. Роль эффективности колонки	134
Литература	134
Глава 11	
ПОДГОТОВКА АНАЛИЗИРУЕМОЙ ПРОБЫ	135
11.1. Общие замечания	135
11.2. Анализ паров летучих веществ над анализируемым материалом и анализ полного содержания летучих веществ в материале	137
11.3. Анализ равновесной паровой фазы	139
11.4. Общие замечания о методиках выделения и концентрирования	140
11.5. Перегонка	140
11.6. Концентрирование понижением температуры	143
11.7. Экстракция	144
11.8. Зонная очистка	146
11.9. Адсорбционные методы	148
11.10. Абсорбция пористыми полимерами	149
Литература	151
Глава 12	
АНАЛИЗ МАТЕРИАЛОВ ОГРАНИЧЕННОЙ ЛЕТУЧЕСТИ	153
12.1. Общие замечания	153
12.2. Пиролитическая газовая хроматография	153
12.3. Силилирование	154
12.4. Методики силанизации	156
Литература	157

Глава 13

ПРИМЕНЕНИЯ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ
НА СТЕКЛЯННЫХ КАПИЛЛЯРНЫХ КОЛОНКАХ 158

- 13.1. Введение 158
- 13.2. Анализ воздуха и дыма 158
- 13.3. Анализ аминокислот 164
- 13.4. Лекарственные препараты и фармацевтические ве-
щества 165
- 13.5. Анализ жирных кислот 168
- 13.6. Анализ пищевых продуктов и напитков 168
- 13.7. Пестициды 175
- 13.8. Анализ сахаридов 179
- 13.9. Анализ стероидов
- 13.10. Другие анализы 182

Литература 184

Приложение I 186

НОМЕНКЛАТУРА 186

Литература 192

Приложение II 192

НЕПОДВИЖНЫЕ ЖИДКИЕ ФАЗЫ 193

Литература 193

Приложение III 201

ДАННЫЕ ПО ПОРИСТЫМ ПОЛИМЕРАМ 201

Материалы типа Порапак 201

Тенакс GC 202

Материалы типа хромосорб «100-серия» 204

Приложение IV 214

РЕАКЦИИ СИЛАНИЗАЦИИ

И ОБРАЗОВАНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ 214

Реагенты 215

Наборы для силанизации 216

Типичные реакции 216

Литература 220

Дополнение 222

КАПИЛЛЯРНЫЕ КОЛОНКИ С НАСАДКОЙ
В ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ 222

Литература 227